# **PROTOPLASMA**

UNTER BESONDERER MITWIRKUNG VON

J. BRACHET N. KAMIYA

A. PISCHINGER

S. STRUGGER

HERAUSGEGEBEN VON

JOSEF SPEK

FRIEDL WEBER

KARL HÖFLER

BAND LI, HEFT 3 MPT 67 TEXTABBILDUNGEN · ABGESCHLOSSEN AM 10. JULI 1969



WIEN SPRINGER-VERLAG 1959

#### Die Zeitschrift

#### Protoplasma

cheint swanglos in einzeln berechneten Heften wechseinden Umfanges, die su Bänden von 600 bis 650 ten vereinigt werden. Die Zeitschrift veröffentlicht Originalarbeiten, kurse Mittellungen, Sammeireferate und kritische Referate allen Teilen der Protoplasmaforschung. Die Abhandlungen, kursen Mittellungen, Sammeireferate und ferate können in den Sprachen der internationalen biologischen Kongresse verfaßt sein.

Manuskripte sowie alle auf die Redaktion bezüglichen Anfragen sind an

Prof. Dr. Fr. Weber, Pfanzenphysiologisches Institut, Graz, Schubertstraße 51, Österreich, oder Prof. Dr. J. Spek, Zoologisches Institut, (3a) Rostock, Universitätsplatz, DDR, oder Prof. Dr. K. Höfler, Pfanzenphysiologisches Institut, Wien I, Dr.-Karl-Lueger-Ring 1, Österreich, zu senden; alle geschäftlichen Mittellungen an den

## Springer-Verlag in Wien I, Mölkerbastei 5 Fernsprecher: 63 96 14 Serie — Telegrammadresse: Springerbuch Wien.

Fernsprecher: 63 96 14 Serie — Telegrammadresse: Springerbuch Wien.

Die Manuskripte sollen mit der Maschine geschrieben sein. Den Abbandlungen ist eine Zusammenfassung beisunfügen, die Literatur ist nicht in Form von Fußnoten, sondern am Ende der Arbeit in Listenform ansurführen.

Die Manuskripte sind vollständig druckreif und in fehlerfreier Sprache einzusenden, so daß bei der Korrektur nur Satzfehler verbessert zu werden brauchen. Überschreiten die Autorkorrekturen 10', der Satzkosten, has der Autor das Mehr zu tragen.

Die Vorlagen für die Abbildungen müssen vollkommen nachbildungsfertig abgeliefert werden. Die Abbildungen sind auf das unbedingt notwendige Maß zu beschränken. Farbige Abbildungen können nur auf Kosten des Autors angefertigt werden. Für die Reproduktion besonders reichen Illustrationsmaterials ist im Interesse der Besteher der Zeltschrift ein Kostenbeitrag zu leisten.

Bedingung der Aufnahme von Arbeiten ist: möglichst kurze Fassung des Textes. Die Beiträge sollen im allgemeinen den Umfang von 1'/<sub>2</sub> Druckbogen (24 Seiten) nicht überschreiten.

"Vorläufige Mitteilungen" und Auseinandersetzungen polemischen Inhalts werden nicht angenommen. Grundsätzlich werden nur Arbeiten aufgenommen, die vorher weder im Inland noch im Ausland veröffentlichten sind; der Autor verpflichtet sich, diese auch nachträgilch inlet anderweitig zu veröffentlichen. Mit der Annahme und Veröffentlichung des Manuskriptes geht das ausschließliche Verlagsrecht für alle Sprachen und Länder auf den Verlag über. Es ist ferner ohne ausdreckliche Genehmigung des Verlags nicht gestattet, photographische Vervielfältigungen, Mikrofilme u. 5. von Heften der Zeitschrift, einzelnen Beiträgen oder von Teilen daraus herzustellen. Die Autoren erhalten 100 Separata ihr Arbeit kostenlos und Können maximal weitere 100 Separata zum angemessenen Preis beziehen. Die Bestellung muß mit dem dem Fahnenabzug beigelegten Bestellzettel bei der Eucksondung der korrigierten Fahnen erfolgen.

Der Verlag

#### LI. Band

Url, W.: Vergleichende Unter gegen Natriumkarbonat .

#### Inhaltsverzeichnis

#### 3. Heft

Seite

## Abhandlungen Barthelmeß, A., und J. Einle

ch	ne	r:	C	h	emi	isel	h	in	du	zic	ert	0	m	ult	ip	ola	re	M	Lit	08	en	. 1	I.	325
					üb																			
0.																			0					338

Kümmel,	G.:	Feins	truk	tur	der	Wimpe	rflamm	e in	den	Pro	tone	phri	die	1				37
Schneider	, L.,	, und	K.	E.	Wol	hifarth	-Botte	rme	nn:	Pro	tiste	nstu	die	n IX		(Ele	k-	
tronenn	nikro	ekopis	che	Unt	ersu	chunger	n an A	möb	en u	nter	bee	onde	rer	Beri	ick	sicht	i-	
gung de	er F	einstru	ıktın	e de	s Cy	toplasm	nas)											37

Pfeiffer, H. H.:	Uber	die	Er	mil	th	ung	de	31	ki	net	inc	he	m	E	101	gi	9	VO	n	Cl	ire	m	08	on	aer	i	n	
der Anaphase																												390
Url, W.: Phasen	optie	he 1	Unt	ers	uc	hw	nge	n	an	F	ruc	ht	fle	iac	hz	ell	en	7	7000	1 8	รีบา	791/20	ho	ric	oar	Du		

ACCOUNTED TYCOTOT					200
Klima, J.: Das Bild	des Endoplasmatischen Reticulums	von	Planaria	alpina in Ab-	
hängigkeit vom pl	H-Wert des Fixierungsmittels. (I.)				415

Steinlesberger,	Erna:	Plasmolysestudien s	an	Laubmoose	n. (II.	(	Oam	otis	che	V	Verte)	436
		Refe	rat	e								463

## Chemisch induzierte multipolare Mitosen\* II

Von

#### A. Barthelmeß und J. Einlechner

Aus dem Botanischen Institut der Universität München

Mit 4 Textabbildungen

(Eingegangen am 16. November 1958)

In der ersten Mitteilung (Barthelmeß 1957) war bereits kurz erwähnt worden, daß die merokinetische Wirkung nicht auf das Äthanol beschränkt ist, sondern zumindest allen niederen aliphatischen, gesättigten einwertigen Alkoholen (C<sub>1</sub>—C<sub>5</sub>) zukommt. Die Belege hiefür sowie Beobachtungen an weiteren verwandten Verbindungen werden im folgenden gegeben. Allgemeines Ziel der Untersuchungen war, in die Ätiologie dieser Mitosestörung Einblick zu erhalten, spezielles Ziel, weitere Beiträge zur Frage der Möglichkeit dysgenischer Wirkung praktisch wichtiger Stoffe zu liefern. Für die Klärung der Konstitutionsspezifität und der Dosis-Wirkungsbeziehungen erschien die Untersuchung paralleler homologer Reihen besonders geeignet.

Die Methodik der Versuche wurde in der ersten Mitteilung bereits beschrieben. Alle Reihen wurden unter möglichst gleichen Bedingungen mit möglichst einheitlichem Pflanzenmaterial (Wurzelspitzen von Allium Cepa) durchgeführt.

#### I. Dosis-Wirkungs-Beziehungen

Sämtliche geprüften Substanzen wirken bei vierstündiger Behandlung in subletaler Konzentration in mehr oder weniger hohem Maße merokinetisch, d. h. sie verursachen die Bildung mehrpoliger Mitosen. In allen Fällen steigert sich die Zahl solcher Mitosen mit zunehmender Konzentration des Agens anfangs zögernd, dann sehr rasch bis zu einem Maximum, jenseits dessen sie wieder abzusinken scheint (Tabelle 1). Soweit genügend Konzentrationsstufen und Wurzeln untersucht worden waren, ist die Wirkungskurve im arithmetischen Netz asymmetrisch mit linksseitigem Maximum (Abb. 1), im halblogarithmischen Netz symmetrisch und wird im Wahr-

<sup>\*</sup> Herrn Prof. Dr. O. Renner zum 75. Geburtstag.

scheinlichkeitsnetz (sofern man nur den aufsteigenden Ast transponiert) zu einer Geraden (Abb. 2).

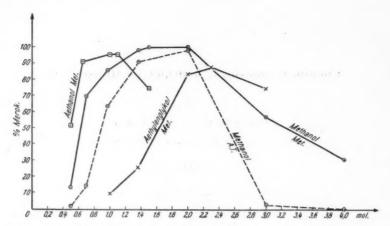


Abb. 1. Dosis-Wirkungskurven von Methanol, Athanol und Athylenglykol. Linksseitige Asymmetrie im arithmetischen Netz.

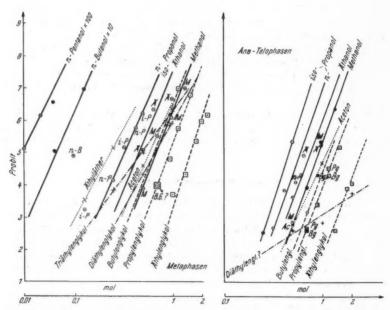


Abb. 2. Probitgeraden der untersuchten Stoffe. Links für abnorme Metaphasen, rechts für abnorme AT.

Das Maximum kann bei 100% mehrpoligen Ana-Telophasen (im folgenden kurz AT) liegen (Methanol); meist wird aber ein so hoher Effekt nicht erreicht, sondern der Abfall der Wirkung setzt bereits bei Konzentrationen ein, die nur einen Teil aller Mitosen merokinetisch abzuändern vermögen. Einzelheiten des cytologischen Bildes und parallele Wachstumsmessungen an den Wurzeln zeigen, daß die unterschiedliche Höhe des Maximaleffekts bzw. der vorzeitige Abfall der Wirkungskurve bestimmt werden durch den Anstieg und das Übermächtigwerden eines zweiten Effekts. der die Manifestation des merokinetischen Mitoseablaufs zunehmend behindert. Das Wachstum wird eingestellt, die Metaphasen sind infolge "Klebrigkeit" verklumpt, bei den Telophasen die auseinanderweichenden Chromosomengruppen durch dünn ausgezogene feulgenpositive Fäden verbunden, die bis zur frühen Interphase erhalten bleiben können. Diese Sekundäreffekte sind in den verschiedenen homologen Reihen nicht ganz gleich; die schon in der ersten Mitteilung für Athanol beschriebenen "Trommelschlegel-Arme" der Anaphase-Chromosomen finden sich vorwiegend bei den einwertigen Alkoholen, kaum bei den Glykolen.

Die Annahme hat einige Berechtigung, daß zumindest alle einwertigen ungesättigten aliphatischen Alkohole bis C<sub>5</sub> in einer bestimmten Konzentration 100% mehrpolige AT hervorrufen könnten, wenn nicht jener Sekundäreffekt bei den meisten schon in einer etwas niedrigeren Konzentration die typische Durchführung des merokinetischen Mitoseablaufs bei vielen Zellen unmöglich machen würde. Die Zahlen der Tabelle 1 und die Wachstumsmessungen deuten an, daß dieser Sekundäreffekt offenbar eine mehr oder weniger rasche Fixierung des zu Versuchsbeginn gegebenen Zustands bewirkt, was in dem Abfall der Kurven jenseits des Maximums sich ausdrückt.

Außer diesen bei allen untersuchten Stoffen gleichen Dosis-Wirkungsbeziehungen sind weitere Gesetzmäßigkeiten innerhalb der einzelnen homologen Reihen und beim Vergleich dieser Reihen untereinander zu erkennen.

In der Reihe der ein wertigen Alkohole von  $C_1$ — $C_5$  nimmt die für maximale merokinetische Wirkung notwendige Konzentration mit steigender Kettenlänge klar im Sinne einer Traubeschen Reihe ab (Tabelle 1 und 2). Eine solche Beziehung ist nichts Ungewöhnliches. Wichtig wäre aber eine möglichst genaue Bestimmung der ED $_{50}$  oder ED $_{100}$ , da ein Vergleich mit dem entsprechenden reihenspezifischen Verhalten bei anderen biologischen Effekten Anhaltspunkte für die Deutung der Genese dieser Mitosestörung bieten könnte. Hierfür hätte jedoch die Zahl der untersuchten Wurzeln wesentlich größer sein müssen. Die Werte der Tabelle 2 können daher nur als Näherung gelten.

In der Reihe der zweiwertigen Alkohole, der Glykole, wiederholt sich diese Dosis-Wirkungsbeziehung, jedoch auf einem wesentlich höheren Konzentrationsniveau. Von Äthylen- und Propylenglykol ist für 50%igen Effekt ungefähr die dreifache Konzentration nötig, von Butylenglykol sogar die zehnfache. Die Probitgeraden zeigen, soweit man aus den relativ wenigen Werten erkennen kann, dieselbe Steigung wie die der einwertigen Alkohole, woraus man auf qualitativ gleichartigen Wirkungs-

Tab. 1. Statistik der normalen und merokinetischen Mitosen in verschiedenen Konzentrationen der untersuchten Stoffe.

	Konzen- tration in mol				Metar	hasen	Ana-Tel	ophasen
	tration	Zahl der Wurzeln	Zahl der Mitosen	Pro- phasen %	gesamt %	davon abnorm %	gesamt %	davon abnorm %
Gesamtmittel								
aller Kontrollen	-	23	3284	55,0	21,1	-	23,9	-
Methanol	-	2	561	50,6	21,9	-	26,5	-
	0,5	2	824	60,1	18,2	13,5	21,8	1,6
	0,7	4	1324	57,6	22,4	69,6	20,0	14,5
	0,98	4	1439	62,6	22,2	86,2	15,2	63,4
	1,37	4	1161	68,6	19,9	97,7	11,5	91,1
	1,5	3	816	67,5	21,0	100,0	11,5	100,0
	2,0	2	492	72,2	16,0	100,0	11,8	98,4
	3,0	2	375	62,4	18,2	56,9	19,4	2,9
	4,0	1	270	56,7	23,6	31,3	19,7	0
Äthanol	_	8	1840	53,8	19,1	-	27,0	-
	0,5	7	2863	59,2	16,2	52,0	24,6	8,5
	0,65	2	885	61,6	14,4	95,3	24,1	47,6
	1,0	4	923	61,0	13,5	91,2	25,5	59,6
	1,1	4	516	65,3	13,8	95,5	20,9	47,2
	1,5	6	1400	55,7	12,9	74,5	31,4	2,7
n-Propanol	_	1	215	57.0	18,8	_	24,4	-
•	0,325	2	552	65,0	16,6	56,5	18,4	1,0
	0,421	2	535	54,8	18,1	78,0	27,1	12,2
	0,54	4	723	55,2	18,8	100,0	26,0	18,2
	0,71	2	264	58,3	25,3	74,3	16,4	2,1
Iso-Propanol		1	296	59,5	16,9	-	23.6	
200 I Topulor	0,125	3	534	53,5	20,4	4,0	26,1	0
	0,125	4	550	56,6	23,8	27,9	19,6	0,7
	0,5	4	455	60,2	10,9	89,0	28,9	63,5
	1.0	2	271	44,6	38,0	51,5	17,4	8,5
n-Butanol	1,0	2	-		17,6	_	26,9	_
n-Dittation	0,062	4	504 500	55,5 60.6	18,9	52,0	20,5	0
	0,096	3	364	60,9	13,4	47,0	25,7	0
	0,125	3	297	53,7	16,4	97,5	29,9	88,8
	0,125	1	121	54,5	22,3	85,2	23,2	68,6
n-Pentanol	0,100				19,9	00,2	29,3	-
n-Pentanoi	_	1	191	50,8			28,3	0
	0,003	4	396	58,1	13,6	55,5	35,1	22,4
	0,0045		511	54,0	10,9	87,4		25,5
7	0,006	4	340	55,3	14,7	94,0	30,0	
Äthylenglykol	-	2	373	51,1	24,9	_	24,0	_
	1,0	2	489	67,6	12,6	9,7	19,8	0
	1,36	4	1088	67,2	17,5	25,2	15,3	1,0
	1,77	4	1102	66,8	21,2	64,1	12,0	13,7
	2,0	2	622	70,6	14,4	83,5	15,0	17,3
	2,3	4	1088	70,0	15,5	87,5	14,5	20,2
	3,0	3	765	65,3	11,9	74,6	22,8	6,8

	mol	Zahl	Zahl	Pro-	Metaj	phasen	Ana-Te	lophasen
	in	der Wurzeln	der	phasen	gesamt	davon abnorm %	gesamt	davon abnorm
Propylenglykol	_	1	333	54,1	21,3	_	24,6	_
	0,69	4	1050	57,0	19,4	15,8	23,6	1,2
	0,9	4	917	59,6	25,6	42,7	14,8	5,8
	1,17	4	1400	66,6	18,6	77,4	14,8	32,8
	1,53	4	1017	68,8	16,8	96,5	14,8	56,5
	2,0	2	501	65,3	19,4	98,0	15,3	32,0
1, 4-Butylenglykol	-	1	283	54,4	23,7	_	21,9	_
	0,69	4	1049	63,8	18,3	15,8	17,9	1,0
	0,9	4	1104	74,5	14,9	81,7	10,6	25,2
	1,17	4	1040	71,6	12,2	97,7	16,2	25,0
	1,53	2	602	73,0	6,4	92,4	20,6	26,9
	2,0	2	435	64,2	15,2	38,8	20,6	9,0
Diäthylenglykol	-	1	213	59,2	20,7	-	20,1	-
	0,5	4	1114	58,5	14,5	26,1	27,0	1,0
	1	4	862	63,4	14,5	82,4	22,1	1,6
	2	3	703	60,4	18,0	57,5	21,6	10,8
Triäthylenglykol	_	1	253	56,1	20,5	-	23,4	-
	0,25	4	643	64,1	15,5	13,0	20,4	0
	0,5	5	629	62,0	9,9	51,0	28,1	0
	1,0	4	766	60,1	13,5	90,4	26,4	3,5
Äthyläther	_	1	167	58,2	20,4	-	21,6	_
	0,125	4	891	66,4	15,7	7,5	17,9	0
	0,25	3	702	66,2	9,9	56,5	23,9	16,8
	0,5	4	965	64,2	21,0	36,2	14,8	6,5
Aceton	_	1	196	58,3	21,9	_	19,8	-
	0,5	4	788	59,5	31,3	35,8	9,2	1,4
	1,0	4	725	56,7	17,4	91,0	25,9	37,4

mechanismus schließen könnte. Doch ist Vorsicht geboten, da sich cytologische Unterschiede in der Wirkung nachweisen lassen. Der Anstieg der ED<sub>50</sub> beim Übergang von einwertigen zu zweiwertigen Alkoholen dürfte wahrscheinlich mit der Erhöhung des Verteilungskoeffizienten zwischen Wasserund Lipoidphase zusammenhängen, der ja auch innerhalb der Reihen sich ändert. Gemeinsam ist allen drei Glykolen der wesentlich geringere Maximaleffekt, verglichen mit der Reihe der einwertigen Alkohole. Ob daran eine prinzipielle Unmöglichkeit zu 100%iger Wirkung oder eine Förderung des begrenzenden Sekundäreffekts schuld ist, kann vorläufig nicht entschieden werden. Es manifestiert sich nicht nur, wie schon erwähnt, der Sekundäreffekt etwas anders, sondern wir werden später auch qualitative cytologische Unterschiede im Primäreffekt kennen lernen.

Von der Reihe der Glykoläther konnten nur die beiden ersten Glieder in genügend reiner Substanz verwendet werden. Die merokinetische

Wirksamkeit ist noch geringer als bei den Glykolen; von den wenigen in Tabelle 1 registrierten Fällen ist zudem nur etwa die Hälfte klar multipolar (also etwa entsprechend Abb. 3 d—o bei Barthelmeß 1957), der Rest stellt Folgen von non congression einzelner Chromosomen dar. Bezüglich der Zahl abweichender Metaphasen scheint sich Diäthylenglykol quantitativ entsprechend dem vergleichbaren Butylenglykol zu verhalten. Bezüglich der Zahl mehrpoliger AT dagegen ist die Wirksamkeit wesentlich ge-

Tab. 2. Dosis-Wirkungs-Kennzahlen der untersuchten Stoffe. ED<sub>50</sub> bestimmt aus der Probitgeraden, ED<sub>100</sub> geschätzt aus der im halblogarithmischen Netz symmetrischen Wirkungskurve.

	Abnorme M	letaphasen	Abnorme Ana	a-Telophasen
	ED <sub>50</sub>	$\mathrm{ED}_{100}$	ED <sub>50</sub>	$\mathrm{ED}_{100}$
Methanol	0,66	1,5	0,9	1,5
Äthanol	0,45	1,1	0,77	1,1
n-Propanol	0,32	0,72	0,57	0,77
Iso-Propanol	0,29	0,65	0,45	0,7
n-Butanol	0,065	0,12	0,08	0,14
n-Pentanol	0,0028	0,0055	0,0055	0,007
Äthylenglykol	1,5	2,9	2,5	4,2
Propylenglykol	0,93	2,1	1,35	2,3
Butylenglykol	0,65	1,5	1,15	1,8
Diäthylenglykol	0,67	3,75	2,9	7,0
Triäthylenglykol	0,48	2,3	1,8	5,3
Äthyläther	0,23	0,5	0,32	0,73
Aceton	0,58	1,9	1,15	2,75

ringer, was angesichts des Hinzukommens eines weiteren hydrophilen Atoms in der Sauerstoffbrücke zu erwarten wäre. Auf dieselbe physiko-chemische Ursache deutet der Vergleich von Di- und Triäthylenglykol. Ob die Probitgerade dieser Glykoläther noch parallel zu der der ein- und zweiwertigen Alkohole verläuft, erscheint zwar zweifelhaft, doch war der Versuchsumfang hier unzureichend.

Im Verfolg der Frage nach der Konstitutionsspezifität wurde auch je ein Ather und ein Keton in die Versuche einbezogen. Sowohl Athyläther wie Aceton erwiesen sich dabei als merokinetisch wirksam, wieder mit der Begrenzung durch hemmende Sekundäreffekte. Verglichen mit den Glykoläthern ist die merokinetische Wirksamkeit des Athyläthers wesentlich höher, entsprechend der relativen Wasserlöslichkeit; qualitativ zeigt sich auffallende Übereinstimmung bezüglich der Bevorzugung von non congression gegenüber Mehrpoligkeit. Jedoch hat Athyläther einen weiteren cytologischen Effekt, der bei den Glykoläthern nicht beobachtet wurde (siehe S. 334). Insgesamt steht er in jeder Hinsicht zwischen den vergleichbaren einwertigen Alkoholen und den Glykoläthern.

Aceton dagegen wirkt qualitativ fast genau wie die niederen ein-

wertigen Alkohole und liefert typische mehrpolige Meta- und Ana-Telophasen in großer Zahl. Für den quantitativen Vergleich kommt vor allem Isopropanol in Frage. Dessen ED<sub>50</sub> liegt jedoch sowohl für Meta- wie für Anaphasewirkung wesentlich niedriger als der des Acetons.

Schon diese beiden Stoffe zeigen, daß die Auslösung merokinetischen Mitoseablaufs kein spezifischer Effekt der alkoholischen Hydroxylgruppe ist, sondern mindestens auch noch Äthern und Ketonen zukommt. Leider können die Literaturangaben über andere Äther und Ketone nicht ohne weiteres zur Ergänzung herangezogen werden, da aus der summarischen Angabe: "c-mitotisch wirksam" bei Fehlen guter Abbildungen nicht entschieden werden kann, ob merokinetische oder stathmokinetische Wirkung beobachtet wurde. Eine Nachuntersuchung weiterer Ketone und Äther sowie Aldehyde ist daher im Gange.

#### II. Besondere cytologische Beobachtungen

Bei der Durchzählung der Präparate aus den Versuchen mit Glykolen, Glykoläthern und Äthyläther fiel auf, daß etwa parallel mit dem Rückgang der Zahl multipolarer AT auch die Zahl jener Metaphasen geringer wurde, die wegen der klar gewinkelten oder mehrflächigen Anordnung der Chromosomen als multipolar entstanden gedeutet werden müssen. In etwa demselben Maße nahm dafür die Anzahl von Metaphasen zu, in denen eines oder wenige Chromosomen außerhalb einer sonst gut geebneten Aquatorialplatte bleiben ("vereinzeltes non congression"). Gleichzeitig erhöhte sich aber auch die Zahl jener AT, in denen außerhalb zweier normal oder diagonal angeordneter bipolarer Chromosomengruppen noch Einzelchromosomen liegen, die — jedes für sich — entweder eine normale durch Centromer und Leitfaser gesteuerte, aber in der Richtung von der Hauptgruppe offenbar unabhängige Trennbewegung durchführen oder sich nach dem Colchicin-Modus passiv und parallel zu trennen scheinen. Der letztere Fall könnte allerdings auch eine Täuschung sein; wenn nämlich die Chromatiden eines separat liegenden Chromosoms infolge verzögerter Centromerteilung zunächst spreizen, dann muß bei beginnender Centromerlösung vorübergehend eine Parallelstellung der Chromosomenschenkel durchlaufen werden, ehe die Wirksamkeit eines Faser-Mechanismus an dem Vorauseilen der Centromerregion erkennbar wird. Die Entscheidung, ob der normale oder der Colchicin-Trennungsmodus vorliegt, ist an so frühen Anaphasen von Fall zu Fall oft schwer zu treffen. Da jedoch die gewinkelt Trennenden sicher, die parallel Trennenden möglicherweise dem Normalmodus folgen, möchten wir die scheinbar parallel trennenden Chromosomen ebenfalls als normal durch Centromer und Leitfaser bewegt auffassen.

Es kann wohl kaum zweifelhaft sein, daß die in AT separat liegenden Chromosomen auch schon in Metaphase abseits lagen, also eine Folge von prometaphasischem non congression darstellen. Nun ist prometaphasisches non congression auch in der Reihe der einwertigen Alkohole nicht selten (Abb. 1 a—h, 1957) und dort finden sich in etwa vergleichbarer Zahl auch in den AT vereinzelte Chromosomen außerhalb der beiden Hauptgruppen.

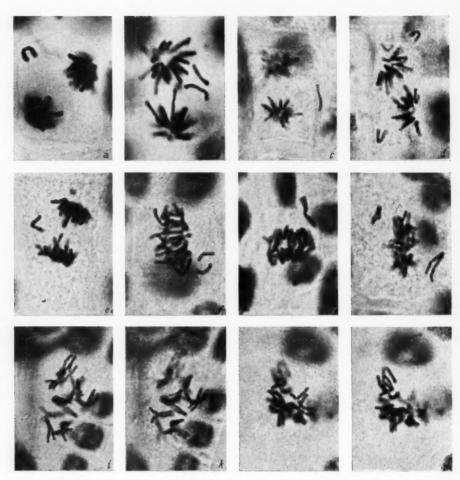


Abb. 3. a, b: Athanol, 1 mol; c, d: Aceton, 1 mol; e, f: Athylenglykol, 2,3 mol; g: Athylenglykol, 3 mol; h: Athylenglykol, 2,3 mol; i, k: Prophylenglykol, 2 mol, dieselbe Mitose in zwei verschiedenen Einstellungen, weitgehende Ahnlichkeit mit Colchicin-Metaphase, Chromosomen aber am Centromer gewinkelt; l, m: Propylenglykol, 1,53 mol, dieselbe Mitose in zwei verschiedenen Einstellungen, Zerstreuung nicht so stark wie in i, k, Winkelung der sich eben trennenden Chromosomen noch deutlicher. In allen Fällen vierstündige Behandlung. Feulgen-Quetschpräparate. a—e: Beispiele für seitliche Lage einzelner Chromatiden in AT infolge Ausbildung eines oder zweier überzähliger "Pole".

f—h: Beispiele für polarwärts tiegende Einzelchromosomen, Nachwirkung von prometaphasischen non congression, in f und h synchrone, in g verspätete Chromatidtrennung in den separaten Chromosomen.

Aber sie liegen dann fast immer seit wärts der Hauptspindel (seitwärts: Abb.  $3\,g$ , h, 1957, Abb.  $3\,a$ , b der vorliegenden Mitteilung; polwärts:  $3\,b$ , 1957), während bei den Glykolen, Glykoläthern und Äthyläther ein erheblicher Anteil polwärts, in der Bewegungsrichtung vor den beiden Hauptgruppen zu beobachten ist: seitwärts in Abb.  $3\,c$ , d, e, polwärts in Abb.  $3\,f$ —h; (sowie Abb.  $3\,b$ , 1957). In letzterem Falle ist es besonders klar, daß dies späte Entwicklungsstadien von Mitosen mit schon prometaphasi-

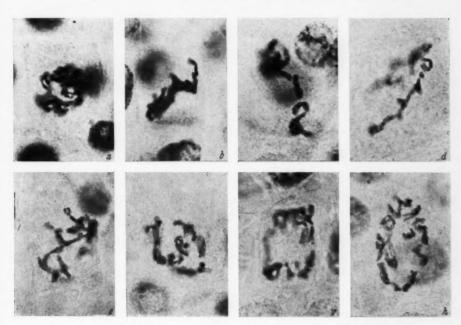


Abb. 4. a: Butylenglykol, 1,17 mol, Chromatidtrennung in Prophaseanordnung infolge extremer Bewegungsverzögerung; b—h: Athyläther, 0,5 mol; b, c, d: Metaphasen in Diagonalstellung. Fast alle Chromosomen zu einer langen Kette bzw. einem offenen Ring zusammenhängend, Verbindungsfäden Feulgen-negativ, daher photographisch nicht darstellbar; e, f: Chromosomenkette gewunden, von der Seite gesehen; g: ditto, von oben gesehen; h: fast ebener äquatorialer Ring von oben, nur einige Chromosomen verkettet; Bilder wie f—h gelegentlich als "exploded metaphase" beschrieben. Relative Überalterung der Chromosomen überall deutlich. Vierstündige Behandlung, Feulgen-Quetschpräparate.

schem non congression sind. Wir haben solche Mitosen zwar als multipolar klassifiziert, aber mit Vorbehalt. Ob sie wirklich so zu bewerten sind, hängt von der strukturellen Deutung des Spindelapparats einschließlich seiner plasmatischen Polfelder ab, wozu erst in einer späteren Arbeit Stellung genommen werden soll. Festzuhalten bleibt aber vorläufig, daß sich die nicht oder verspätet in die Metaphaseplatte einwandernden Chromosomen in den

Versuchen mit den einfachen Alkoholen häufig anders verhalten als in den mit den zweiwertigen Alkoholen und Athern.

Eine weitere Besonderheit fiel in den Versuchen mit At hy l ä t h er auf. In der Optimalkonzentration finden sich zahlreiche Metaphasen (jedoch nicht nur solche!), bei denen viele oder sogar alle Chromosomen zu einem mehr oder weniger ebenen oder wellig verbogenen äquatorialen Ring terminal oder subterminal verkettet sind (Abb. 4b-h). Auch dieses Verhalten steht nicht ganz isoliert. Wie schon in der ersten Mitteilung (B a r t h e l m e l

Tab. 3. Zahlenverhältnis der drei Hauptstadien der Mitose bei der im Versuch erreichbaren merokinetisch optimalen Konzentration.

	Merok. optim.	Pr	ophasen	Met	aphasen	Ana-T	Telophasen
	Konzentr. mol	%	Differenz	%	Differenz	%	Differenz
Gesamtmittel aller Kontrollen		55,0	_	21,1	_	23,9	-
Methanol	1,5	67,5	+ 12,5	21,0	- 0,1	11,5	- 12,4
Äthanol	1,0	61,6	+ 6,6	14,4	- 6,7	24,0	+ 0,1
n-Propanol	0,54	55,2	+ 0,2	18,8	- 2,3	26,0	+ 2,1
Iso-Propanol	0,5	60,2	+ 5,2	10,9	- 10,2	28,9	+ 5,0
n-Butanol	0,125	53,7	- 1,3	16,4	- 4,7	29,9	+ 6,0
n-Pentanol	0,0045	54,0	- 1,0	10,9	- 10,2	35,1	+ 11,2
Äthylenglykol	2,3	70,0	+ 15,0	15,5	- 5,6	14,5	- 9,4
Propylenglykol	1,53	68,8	+ 13,8	16,4	- 4,7	14,8	- 9,1
1, 4-Butylenglykol	1,17	71,6	+ 16,6	12,2	- 8,9	16,2	- 7,7
Diäthylenglykol	2,0	60,4	+ 5,4	18,0	- 3,1	21,6	- 2,3
Triäthylenglykol	1,0	60,1	+ 5,1	13,5	- 7,6	26,4	+ 2,5
Äthyläther	0,25	66,2	+ 11,2	9,9	- 11,2	23,9	0
Aceton	1,0	56,7	+ 1,7	17,4	- 3,7	25,9	+ 2,0

1957) erwähnt und bildlich belegt (Abb. 2 dort), ist ringförmige Anordnung auch nach Methanol und Athanolbehandlung nicht selten; doch kommt es dort nicht zu solch auffallender enger Verkettung. Diese entwickelt sich aber wohl aus ähnlichen Anfängen, d. h. aus einer prometaphasischen Wanderung der Chromosomen längs der ehemaligen Kernwand statt im Innern des Kernraumes. Wenn diese formale Deutung zutrifft, wäre als Ursache wiederum, wie schon aus früheren Beobachtungen (1957, Abb. 1 a, d), ein Haftenbleiben der Chromosomen (wahrscheinlich der Arme, nicht allein der Centromeren) an der Phasengrenze Kern-Plasma diskutabel. Zeigen doch alle elektronenmikroskopischen Aufnahmen von Interphase- und Prophasekernen unbehandelter Zellen die als Chromatin zu deutenden Massen in inniger Verbindung mit der Innenlamelle der Kernmembran und, ihr entlang, auch unter sich. Festigung und dadurch verlängertes Erhalten-

bleiben einer solchen Verbindung, eventuell auch der strukturierten Kernmembran als Ganzes oder in Teilen unter dem Einfluß der betreffenden Agenzien könnte sehr wohl die gemeinsame Ursache für non congression wie für periphere Wanderung, für die als "exploded metaphase" beschriebene Anordnung (Abb. 4 g, h sowie 1957, Abb. 1 n) und Ringbildung sein.

Ein Indiz zugunsten einer solchen Interpretation wäre vielleicht aus einem Vergleich der Häufigkeit der drei Hauptstadien der Mitose zu gewinnen. In Tabelle 3 sind die betreffenden Zahlen (unter Einrechnung auch der normal verlaufenden Mitosen) für die merokinetischen Optimalkonzentrationen zusammengefaßt und die Unterschiede gegenüber den Kontrollen berechnet. Man sieht daraus, daß gerade bei jenen Stoffen, bei denen Nichteinwandern einzelner Chromosomen und periphere Anordnung auffallender werden, die Prophasen deutlich zu, die Meta- und Ana-Telophasen entsprechend abnehmen. Das könnte zwar sowohl aus einer Förderung des Übergangs von Interphase in Prophase resultieren wie aus einer Hemmung des Übergangs von Prophase in Metaphase. Eine direkte Entscheidung kann an Quetschpräparaten nicht einwandfrei getroffen werden, da das Zahlenverhältnis Interphase/Mitose stark von der relativen Lage des Zählfeldes innerhalb der Wurzel abhängt. In Anbetracht der Prozentzahlen von AT bei Glykoläthern und Äthyläther und der oben erwähnten cytologischen Beobachtungen dürfte die Zunahme der Prophasen aber tatsächlich auf Hemmung des Übergangs in Metaphase beruhen.

#### III. Merokinese und Stathmokinese

Die im ersten Teil der Arbeit ausgesprochene Vermutung, daß merokinetischer und stathmokinetischer Mitoseverlauf nicht dosisbedingte quantitative Stufen eines sonst ätiologisch gleichartigen Prozesses sind, sondern Vorgänge, die in verschiedener Weise verursacht werden und von verschiedenen physikalischen und chemischen Eigenschaften der auslösenden Agenzien abhängig sind, wird durch die Untersuchungsergebnisse an den hier besprochenen Stoffen weiter gestützt. In keinem Falle wird bei Konzentrationssteigerung die merokinetische Wirkung durch eine echt "c-mitotische" abgelöst. Vergleicht man jedoch die extremsten Fälle "ungeordneter" Metaphasen (etwa Abb. 3 i, k sowie 1957, Abb. 1 o, p1, p2) mit den für Colchicinwirkung bekannten Bildern, so muß man zugeben, daß die Ahnlichkeit sehr groß werden kann. Doch sind Chromosomenanordnung, Spätteilung der Centromere und Spreizen der Arme ja nicht die einzigen Kennzeichen der Colchicinmitose. Sehr viel wesentlicher sind das gänzliche Fehlen von Anzeichen für einen Fasermechanismus und der Abschluß der Mitose durch Bildung eines polyploiden Restitutionskerns. Bei allen hier untersuchten Stoffen sind jedoch bis zur Optimalkonzentration fast immer deutliche Anzeichen einer normalen Leitfaser-Centromer-Funktion vorhanden, zumindest für jedes Einzelchromosom; nur die Koordination scheint in wechselndem Grade aufgehoben. Man könnte ferner einwenden, daß solche besonders deutlich Colchicinwirkung imitierende, aber durch Alkohole induzierte Metaphasen, wie sie in Abb. 4 i, k sowie Abb. 1 o,  $p_1$ ,  $p_2$ , 1957 wiedergegeben sind, bei einer länger als vier Stunden dauernden Behandlung sich ebenfalls zu polyploiden Restitutionskernen entwickelt hätten. Bei Colchicin genügt bekanntlich vierstündige Einwirkung vollauf zur Entstehung zahlreicher polyploider Kerne. In der ersten Mitteilung wurde bereits ein Dauerversuch mit 96stündiger Behandlung in einer allerdings nicht optimal merokinetischen Konzentration erwähnt, der jedoch keinerlei Anzeichen einer Auslösung von Polyploidie ergab. Er soll mit höheren Konzentrationen wiederholt werden. Aber auch wenn sich etwa nach 24stündiger Einwirkung eines Agens, z. B. Propylenglykols, Paralleltrennung der Chromatiden und Restitutionskernbildung einstellen sollten, muß dies noch kein schlüssiger Beweis dafür sein, daß der Stoff "c-mitotisch", d. h. ätiologisch in gleicher Weise wirkt wie Colchicin. KCN wirkt z. B. nach Levan und Wangenheim (1952) erst nach mehrtägiger Behandlung in subletaler Konzentration "c-mitotisch"; doch kann man nach so langer Versuchsdauer nicht mehr entscheiden, ob dies auf unmittelbarer Reaktion von KCN auf Kern- bzw. Spindelmaterial oder auf dem Auftreten eines echt stathmokinetischen Stoffes in der Zelle infolge der hochgradigen Atmungsvergiftung oder eventuell auch auf dem Ausfall der für den Aufbau der Spindelstruktur notwendigen Atmungsenergie beruht. Langzeitversuche wären also kein sehr beweiskräftiges Mittel zur Entscheidung dieser Frage.

Aber selbst wenn die Verlängerung der Behandlungsdauer von 4 Stunden auf nur 6 oder 8 Stunden tatsächlich zur Entstehung polyploider Restitutionskerne nach bi- oder multipolarer anaphasischer Verteilung führen würde, wäre dies wiederum noch kein Beweis gegen die Möglichkeit eines zweiten Weges zu diesem Endeffekt. Der eine Weg ist der der Auflösung bzw. Nichtbildung des Spindelapparats (sei es, daß die Spindelfasern durch lineare Polymerisierung aus vorher isolierten ungeordneten Mizellen oder durch Entfaltung vorher globulär geknäuelter Protein-Makromoleküle entstehen). In diesem Falle sind die Chromosomen ohne Verbindung mit den vor dem Eingriff existierenden Polfeldern. Dies ist, nach allem, was wir bisher wissen, der Wirkungsmechanismus des Colchicins. Der andere Weg ist der einer Hemmung der mitotischen Bewegung trotz voller Ausbildung des Strukturzusammenhangs Polfeld-Faser-Centromer bei jedem einzelnen Chromosom. Wenn diese Hemmung stark genug ist, kann die Ortsbewegung der Chromosomen u. U. mit ihrer Metamorphose nicht mehr Schritt halten, d. h. die Chromosomen können den Anaphasezustand in Meta- oder gar Prophase lage erreichen (Abb. 4 a, g, h). In einem solchen Fall wäre der Abschluß des Prozesses durch Bildung eines polyploiden Restitutionskerns nicht unwahrscheinlich. Die Ausdehnung der Versuche auf weitere Stoffe wird uns vielleicht vor die Notwendigkeit stellen, unter dem Dachbegriff "Stathmokinese" (alle Arten gehemmten und dadurch abnorm endenden Mitoseablaufs) zumindest für jene beiden soeben beschriebenen Formen besondere Termini einzuführen.

In diesem Sinne wird man sich auch fragen müssen, ob es richtig ist, die Fälle metaphasischen Nichteinwanderns einzelner oder vieler Chromosomen und die der AT mit polar vorgelagerten separaten Chromosomen mit den klar multipolaren Meta- und Ana-Telophasen zusammenzuziehen, wie dies in den Tabellen dieser Arbeit geschehen ist. Wir sind, wenn auch mit Bedenken, so verfahren, weil die Unterscheidung zwischen beiderlei Formen in manchen Fällen schwierig ist. Dennoch scheint sie wenigstens für künftige Untersuchungen notwendig, weil eben eine ursächliche Verschiedenheit berücksichtigend.

#### Zusammenfassung

1. Aus Versuchen mit vierstündiger Behandlung von Wurzelspitzen von Allium Cepa mit wäßrigen Lösungen einfacher gesättigter aliphatischer Alkohole, Glykole, Glykoläther, Äthyläther und Aceton werden die cytologischen Beobachtungen an rund 50.000 Mitosen mitgeteilt.

2. Alle untersuchten Stoffe wirken in mehr oder weniger hohem Grade merokinetisch, d. h. sie verhindern weder die Spindelbildung, noch heben sie für das Einzelchromosom die Funktion des Centromer-Leitfaser-Apparats auf, verursachen aber Aufspaltung des Spindelkomplexes in Längs-

richtung mit den Folgen der Ausbildung multipolarer Mitosen.

3. Darüber hinaus verursachen vor allem die Glykole, Glykoläther und der Athyläther in deutlich höherem Maße als die einwertigen Alkohole und das Aceton prometaphasisches Nichteinwandern einzelner bis vieler Chromosomen in die Aquatorialebene und, damit zusammenhängend, häufiger das Auftreten einzelner polarwärts der Anaphasegruppen separat liegender Chromosomen.

4. Es wird die Möglichkeit erörtert, daß dieses Nichteinwandern einem anderen Wirkungsmechanismus entspringt als die typische Multipolarität, nämlich einer abnormen Festigung der Verbindung zwischen Chromosom

und Phasengrenze Kern-Plasma bzw. Kernmembran.

5. Auch in den optimalen oder überoptimalen Konzentrationen geht der merokinetische Mitoseablauf nicht in den für Colchicinwirkung typischen über. Doch können sehr ähnliche Bilder dadurch entstehen, daßt die Metamorphose der Chromosomen deren Ortsbewegung überholt, weil letztere gehemmt ist.

 Die merokinetische Wirkung scheint mit dem Verhältnis hydrophiler zu hydrophoben Regionen im Molekül des Agens zu variieren.

#### Literatur

Barthelmeß, A., 1957: Chemisch induzierte multipolare Mitosen. Protoplasma 48. 546-561.

Levan, A., and K. H. Freih. v. Wangenheim, 1952: Potassium cyanide in the Allium Test. Hereditas (Schwd.) 38, 297—313.

d'Am at o, Fr., 1948: The effect of Colchicine and Ethylenglycol on sticky Chromosomes in Allium Cepa. Hereditas (Schwd.) 34, 83-103.

### Vergleichende Untersuchungen über die Resistenz pflanzlicher Plasmen gegen Natriumkarbonat

Von

#### Walter Url

Aus dem Pflanzenphysiologischen Institut der Universität Wien

Mit 10 Textabbildungen

(Eingegangen am 1. Dezember 1958)

#### Einleitung

Die Erforschung der Resistenzeigenschaften pflanzlicher Plasmen hat im letzten Jahrzehnt der protoplasmatischen Pflanzenanatomie wie der vergleichenden Protoplasmatik viel neues Beobachtungsmaterial geliefert. Neben der Prüfung der Plasmaresistenz gegen organische Stoffe (2, 4-D: Biebl 1953, Farbstoffe: Loub 1951) gegen Natriumazid (Url 1959) u. a. hat sich besonders die Untersuchung der Resistenz gegen Spurenelemente (Bor und Schwermetalle) im konzentrationsgestuften Reihenversuch als Mittel zur Kennzeichnung pflanzlicher Plasmasorten bestens bewährt (Biebl 1947 a, b, 1949, 1950 a, b, c, 1952, Pribik 1947, Biebl und Rossi-Pillhofer 1954, Url 1955, 1956, 1957).

Ziel der von den Arbeiten Biebls ausgehenden Versuche war es wohl zunächst, für verschiedene Plasmasorten kennzeichnende "Resistenzkombinationen" aufzufinden. So zeigte Biebl (1947 a, b), daß das Plasma der Laub- und Lebermoose eine sehr hohe und gleichmäßige Manganresistenz aufweist, während viele Blütenpflanzenzellen gegenüber diesem Metall große Verschiedenheit der Empfindlichkeit aufweisen. Für die protoplasmatische Pflanzenanatomie interessant waren Biebls Befunde über die gegensinnige Wirkung von Bund Zn auf alte und junge Mnium-rostratum-Zellen bzw. Blattzellen dieses Mooses einerseits und Rippenzellen und Randzellen andererseits.

Die Schwermetallresistenzuntersuchungen erfaßten zunächst hauptsächlich die echte plasmatische Resistenz, d. h. die Widerstandsfähigkeit, welche das Plasma Stoffen gegenüber besitzt, die eindringen. Das lag vor allem daran, daß die verwendeten konzentrationsgestuften Reihen nur etwa 3- bis höchstens 10prozentige Lösungen umfaßten, welche aber fast in allen Fällen noch hypotonisch waren, also keine Plasmolyse hervorriefen.

Nun sagt Höfler in seinen vielzitierten Sätzen über das Wesen der Resistenz (1951, S. 429): "Wenn eine Substanz binnen gleicher Zeit die einen Zellen tötet, die anderen am Leben läßt, so kann dies zweierlei Ursachen haben: Das Plasmalemma ist bei den einen Zellen für die betreffenden Stoffe durchlässig, bei den anderen nicht, d. h. die Intrabilität ist hoch bzw. niedrig. Oder die Stoffe treten in beiden Fällen ein, aber die einen Cytoplasmen sind gegen sie unempfindlich, die anderen werden getötet."

Biebl und Rossi-Pillhofer (1954) beschreiben bei MnSO<sub>4</sub>-Reihenversuchen das Auftreten von "Todeszonen". Sie finden, daß Zellen von Rettich und weißer Rübe in den ganz niedrigen Konzentrationen leben, in 0,1% bis 1% MnSO<sub>4</sub> dann zumeist absterben, in 3% aber wieder alle am Leben sind. Zu dieser Erscheinung, die in ihren Grundzügen schon länger bekannt ist (Lepeschkin 1927, Iljin 1935), schreiben Biebl und Rossi-Pillhofer (S. 131): "Der Annahme Höflers, daß in bestimmten Fällen die Resistenzunterschiede verschiedener Plasmen auf Verschiedenheiten ihrer Plasmalemmen zurückgehen, darf somit ergänzend hinzugefügt werden, daß die verschiedene "Dichte" des Plasmalemmas nicht von vornherein gegeben sein muß, sondern sich unter Umständen erst bei Einwirkung höherer Salzkonzentrationen ausbilden kann. Neu ist, daß solche Veränderungen des Plasmalemmas … schon im hypotonischen Bereich auftreten können."

Das Problem der Plasmaresistenz gegen giftige Agenzien — in unserem Fall zunächst also Schwermetallsalze — nimmt damit einen komplexeren Charakter an. Es trifft sich mit einem anderen Problem der Protoplasmatik, mit dem der Plasmahautschichten. Auf diesem Gebiet liegt nun die für vergleichende Protoplasmatik wie protoplasmatische Pflanzenanatomie gleich wichtige Arbeit Höflers (1951) über Plasmolyse mit Natriumkarbonat vor. Höfler zeigte, daß die Resistenz verschiedener Pflanzenzellen gegen Sodalösung sehr unterschiedlich ist. Während Zellen höherer Pflanzen durch hypertonische Sodalösung meist sofort getötet werden, ertragen Algenzellen in vielen Fällen über Stunden und sogar Tage Sodaplasmolyse, wobei das Plasmalemma ein Eindringen der Soda in das Binnenplasma verhindert.

Die Frage nach der Schutzwirkung des Plasmalemmas und im Zusammenhang damit das Phänomen der Todeszonen wurde später, besonders in Schwermetallversuchen, weiter ausführlich untersucht (Url 1955, 1956, 1957). Es zeigte sich dabei, daß man bei längerdauernden Resistenzversuchen mit konzentrationsgestuften Lösungen, wenn man die Reihe bis zu hypertonischen Lösungen fortsetzt, im wesentlichen drei verschiedene Bilder vor-

finden kann:

 Die Pflanzenzellen leben bis zu einer gewissen — schwachen bis mittleren — Konzentration und sind in allen stärkeren Lösungen abgestorben. In den hypertonischen Lösungen kann anfäng-

<sup>&</sup>lt;sup>1</sup> Die von Biebl eingeführte und angewandte Methode bevorzugt eine Einwirkungsdauer von 48 Stunden.

lich Plasmolyse eingetreten sein und die Zellen sind dann erst abgestorben. Die Lebensgrenze liegt dabei oft in den Reihen ziemlich gleichmäßig. So ist bei verschiedenen Schwermetallen die Grenze um 0,001% (das sind etwa 5.10–5 mol) bevorzugt, und zwar in verschiedenen Pflanzengruppen (vgl. die Zusammenfassung bei Url 1955). Bei 2,4-D-Reihenversuchen liegen die Grenzen oft bei 0,01–0,05%, in Azidreihen (Url 1959) bei 10–4 bis 10–3 mol und in den in der vorliegenden Arbeit beschriebenen Sodaversuchen bei 10–3 mol.

- 2. Es tritt eine Todeszone auf. Dabei leben die Zellen in den schwächeren Konzentrationen, sind in den mittleren tot und leben wieder in den stärkeren. Der obere Lebensbereich, den man besser als Bereich des "Überlebens" bezeichnen sollte, weil ja die Ursache der Resistenz hier nicht in einer Widerstandsfähigkeit des Gesamtplasmas liegt, sondern eine Schutzwirkung des Plasmalemmas das Binnenplasma gegen die giftigen Stoffe abdichtet, kann entweder an den hypertonischen Bereich gebunden sein oder aber auch schon in noch hypotonischen Lösungen beginnen. Diese Verhältnisse finden sich hauptsächlich in Schwermetallversuchen und hier besonders bei Moos- und Algenplasmen (Biebl und Rossi-Pillhofer 1954, Url 1955, 1956). Ganz selten kann man eine Art doppelte Todeszone beobachten, wie bei VOSO4-Versuchen an Alicularia scalaris (Url 1956, S. 772). Die Zellen leben hier im Bereich von 0,1 und 0,05 mol und wieder in ganz niedrigen Konzentrationen von 5.10-7 mol und darunter. Dagegen sind sie im mittleren Bereich von etwa 5.10-4 und 5.10-5 mol tot und ebenso in den hypertonischen Konzentrationen von 0,5 und 1,0 mol, doch ist bei Fällen, in denen der obere Lebensbereich bis in höhere hypertonische Konzentrationen reicht, immer zu beachten, daß hier nicht so sehr die hohe Konzentration eine Schädigung verursacht als die überstarke Plasmolyse. Dieser Umstand wird auch bei den Plasmolyseversuchen mit Soda an Algenzellen zu beachten sein.
- 3. Die Zellen leben in allen verwendeten Konzentrationen, d. h. also auch in hypertonischen Lösungen, welche mehr oder minder starke Plasmolyse verursachen. Diese Fälle sind am schwierigsten zu interpretieren. Man findet sie häufig bei Schwermetallversuchen, aber auch bei anderen Stoffen, wie Soda und Azid. Da wir dort, wo Plasmen hohen Konzentrationen von Schwermetallsalzen, aber auch anderen giftigen Stoffen Widerstand leisten, auf jeden Fall mit einer "Abdichtung" rechnen müssen, ist die Frage die, ob hier die Plasmen im mittleren Konzentrationsbereich deshalb resistent sind, weil sie eine hohe plasmatische Resistenz besitzen, oder ob eine Abdichtung, sei es durch Bildung einer Schutzschicht oder Dehydration im Sinne Kahos, hier schon in relativ geringen Konzentrationen möglich ist, wobei auch an eine Überschneidung beider Faktoren zu denken wäre (vgl. dazu Url 1955, S. 226 f.).

Die vergleichenden chemischen Resistenzuntersuchungen an pflanzlichen Plasmen zielen darauf ab, die damit erfaßten, nicht umweltbezogenen, konstitutionellen Resistenzen (Biebl 1947a, b. 1949) zur objektiven Charakterisierung verschiedener Plasmasorten zu verwenden, Resistenzen also des Plasmas gegen Stoffe, die in der Natur nie oder nur

selten in solcher Stärke vorkommen, daß sie für das Leben der Pflanze Bedeutung gewinnen könnten<sup>2</sup>.

Als Ergebnis dieser Untersuchungen zeichnen sich einige große Züge ab, welche uns Verschiedenheiten der Plasmen der großen Pflanzengruppen (Algen, Moose, Blütenpflanzen) erkennen lassen. In der Besprechung wird darauf zurückzukommen sein.

Die vergleichenden chemischen Resistenzstudien erwiesen sich aber auch als brauchbar zur Kennzeichnung unterschiedlicher Plasmaartung eng verwandter Spezies. Es sei hier z. B. an Closterium Lunula erinnert, welches sich verschiedensten Einwirkungen gegenüber als sehr empfindlich erwies (Schwermetalle, Farbstoffe, Azid, Soda), während etwa Euastrum oblongum ein allgemein sehr widerstandsfähiger Organismus ist; Micrasterias truncata ist allgemein ziemlich resistent, M. rotata und denticulata sind aber

recht empfindlich.

Höfler (1951) zeigte, daß Algenplasmen gegen Sodaeinwirkung oft sehr resistent sind, Plasmen von Blütenpflanzen dagegen meist empfindlich. Er arbeitete mit hypertonischen Lösungen und betrachtete die durch die Schutzwirkung des Plasmalemmas gegebene Sodaresistenz. Ein Ziel der vorliegenden Arbeit war es nun, zunächst in Reihenversuchen die echte plasmatische Sodaresistenz verschiedener Pflanzenzellen zu erfassen. Eine weitere Hauptaufgabe aber sollte sein, das Verhalten von Moos-Plasmen speziell gegen hypertonische Sodalösungen zu prüfen. Denn es war zunächst wahrscheinlich, daß — dem ähnlichen Verhalten in Schwermetallsalzlösungen nach — Moosplasmen eine ähnlich hohe Resistenz gegen Soda besitzen wie Desmidiaceen (vgl. die Fußnote bei Url 1955, S. 223). Höfler hat in seiner Arbeit Moose nicht untersucht.

Im Gegensatz zu Versuchen mit Schwermetallen, Azid, 2-4 D, Systox (Schindler und Rücker 1956) u. a. war aber bei den Sodalösungen wohl nicht mit einer spezifischen Giftwirkung zu rechnen, sondern es war klar, daß bei den Versuchen vor allem die pH-Resistenz im alkalischen Bereich würde erfaßt werden müssen.

#### Methodik

Zur Feststellung der Resistenzgrenzen wurde das Pflanzenmaterial in 75 cm³ Opodeldok-Fläschchen gebracht, welche meist 20 cm³ der Sodalösung enthielten. Bei Blütenpflanzen wurden Schnitte von Stengeln oder Blattstielen, bei Moosen ganze Stämmchen in die Lösungen eingetragen, von denen dann zur mikroskopischen Untersuchung Blättchen abgezupft wurden. Die Algen wurden in kleine Röhrchen von 4 cm Höhe und 0,7 cm Durchmesser einpipettiert. Zu der nur geringes Volumen einnehmenden Algenprobe wurde die Sodalösung dann zugegossen, wobei die geringe Verdünnung zu vernachlässigen war (zur Methodik, vgl. Url 1955, S. 208). Die gefüllten Röhrchen wurden in einen mit Natronkalk beschickten Ex-

<sup>&</sup>lt;sup>2</sup> Eine eigene Untersuchung befaßt sich mit der Schwermetallresistenz des Plasmas von Moosen, welche am Standort höheren Kupferkonzentrationen ausgesetzt sind, also mit "ökologischen" Schwermetallresistenzen (Url 1956).

sikkator gestellt, um eine Veränderung des pH-Wertes der Lösungen durch die Luftkohlensäure hintanzuhalten.

Wie in vorangegangenen Untersuchungen wurde das Pflanzenmaterial 48 Stunden in den Lösungen belassen. Diese Zeitspanne hat sich deshalb als vorteilhaft erwiesen, weil sich danach ein gewisser Gleichgewichtszustand einstellt. Die Schädigungsgrenze bleibt nachher oft lange Zeit konstant (vgl. Biebl und Rossi-Pillhofer 1954, S. 114 f.). Als Lebensreaktion wurde in den meisten Fällen Plasmolyse in Zucker, Glyzerin oder KNO<sub>3</sub>-Lösungen angewandt. Die Messung der pH-Werte erfolgte mit einem Metrohm-Gerät Typ E 196 S und einer alkalifesten Glaselektrode Typ U (Anzeigegenauigkeit etwa 0,05).

In den Tabellen bedeutet: l=lebend, (l)=80-90% lebend,  $\mp=40-70\%$  lebend,  $(\mp)=$  bis 40% lebend,  $\pm=$  einzelne Zellen oder kleine Zellgruppen lebend, += alles tot, Pl= die Zellen sind plasmolysiert, (Pl)= Zellen waren anfänglich plasmolysiert, sind aber dann abgestorben, TP= Tonoplasten überleben, (TP)= nur einzelne Tonoplasten sind zu beobachten. Die zweite Spalte enthält das Datum der Versuchsablesung. Das Zeichen in den Tabellen bei *Mnium punctatum* und *cuspidatum* bedeutet, daß die Randzellen abgestorben sind.

#### Versuche

Die Tabelle 1 gibt einen Überblick über die Ergebnisse. Es zeigt sich, daß Algen-Plasmen tatsächlich oft wesentlich resistenter sind als Zellen von Blütenpflanzen und daß die Resistenz der Moose durchaus in der gleichen Größenordnung liegt wie jene der höheren Pflanzen. Weiters ist zu ersehen, daß die resistenten Desmidiaceen nicht nur in hypertonischen Sodalösungen lange Zeit am Leben bleiben, sondern auch gegen mittlere Konzentrationen widerstandsfähig sind. Daß nicht alle Desmidiaceen hohe Sodaresistenz besitzen, hat schon Höfler (1951) dargetan. Die empfindlichen Arten besitzen keine höhere Resistenz als Plasmen anderer Pflanzen, teilweise sogar eine niedrigere (Closterium Lunula, Micrasterias denticulata).

Auffällig ist in den Sodaversuchen das fast völlige Ausbleiben der Todeszonenbildung. Eine solche ist nur bei zwei Desmidiaceen (Euastrum oblongum und Tetmemorus granulatus) bei einem Versuch andeutungsweise zu beobachten gewesen.

Ein Überblick über die nach 48 Stunden Soda-Einwirkung ausgewerteten Resistenzversuche zeigt auch die auffallende Tatsache, daß sich bei Moosen in den hypertonischen Lösungen nur sehr selten Spuren anfänglicher Plasmolyse finden, eine Erscheinung, die bei Blütenpflanzenzellen oft zu beobachten ist. Bei Schwermetall- und Azidversuchen ist anfängliche Plasmolyse fast die Regel. Schon dies weist darauf hin, daß die Moosplasmen kaum eine anfängliche Plasmolyse in Soda ertragen, eine höchst überraschende Feststellung, welche durch die Plasmolyseversuche bestätigt wurde.

Betrachten wir aber zunächst die Lage der Resistenzgrenzen. Von den

Tabelle 1.

		4	avei	te 1.								
mol		1,0	0,5	6,0	0,2	0,1	10-2	10-3	10-4	10-5	10-6	10-7
Gloeococcus bavaricus	19. 8. 57	l <sub>Pl</sub>	lPI	1	1	1	1	1	1	1	1	
Gloeococcus bavaricus	21.10. 57	$l_{Pl}$	1	1	1	1	1	1	1	1		
Eremosphaera viridis	19. 8.	± (Pl)	+	+	1	1	1	1	1	1	1	
Netrium oblongum	4. 10. 56	+	+	+	+	+	+	=	1	1	1	1
Netrium digitus	19. 8. 57	+	+	+	+	+	+	±	1	1	1	
Closterium ulna	4. 10.	+	+	+	+	+	1	1	1	1	1	1
Closterium didymotocum	4. 10.	+	+	+	+	+	1	1	1	1	1	1
Closterium striolatum	4. 10.	+	+	+	+	+	(1)	(1)	1	1	1	1
Closterium striolatum	19. 8. 57	+	+	+	+	+	1	1	1	1	1	1
Closterium Lunula	4. 10.	+	+	+	+	+	+	+	+	+	1	1
Closterium Lunula	56 19. 8.	+	+	+	+	+	+	+	+	1	1	
Tetmemorus granulatus	57 4. 10.	+	+	+	+	+	1	1	1	1	1	
Tetmemorus granulatus	56 19. 8.	+	Ŧ	±	+	+	+	1	1	1	1	
Tetmemorus Brebissonii	57 19. 8.	lpi	lpi	1		1	1		1	1	1	
Euastrum oblongum	57 4. 10.	+	+		1	1	1	1	1	1	1	1
Euastrum oblongum	56 19. 8.	+	Ŧ	Ŧ	+	+	1	1	1	1	1	
Euastrum humerosum	57 19. 8.	(PI) +	+	Ŧ	1	1	1	1	1	1	1	
Euastrum insigne	57 19. 8.	-		1	1		1	1	1	1	1	
	57 19. 8.	l <sub>Pl</sub>	lpl	1	1			1	1	1	1	
Euastrum crassum	57 21.10.	(Pl) +	(1)	+		1	1					
Euastrum crassum	57 4. 10.	(Pl)	(Pl)	(Pl)	(1)	1	1	1	1			1
Micrasterias rotata	56 19. 8.	+	+	+	+	+	Ŧ	1	1	1	1	1
Micrasterias rotata	57 19. 8.	+	+	+	+	+	+	1	1	1	1	
Micrasterias decemdentata	57	+	+	+	+	+	±	+	1	1	1	
Micrasterias americana	19. 8.	+	+	+	+	+	+	+	1	1	1	
Micrasterias fimbriata	19. 8.	+	+	+	+	+	+	+	1	1	1	
Micrasterias truncata	19. 8. 57	+	+	+	干	Ŧ	1	1	1	1	1	

mol		1,0	0,5	0,3	0,3	0,1	$10^{-2}$	10-3	10-4	10-2	10-6	10-2
Micrasterias denticulata	19. 8. 57	+	+	+	+	+	+	+	+	+	1	
Xanthidium armatum	4. 10. 56	+	+	+	+	+	1	1	1	1	1	1
Xanthidium armatum	19. 8. 57	+ (Pl)	+ (Pl)	+	+	±	1	1	1	1	1	
Xanthidium armatum	21. 10. 57	+ (Pl)	+ (Pl)	+	+	+	1	1	1			,
Desmidium cylindricum	4. 10. 56	+	+	+	±	±	干	1	1	1	1	1
Spirogyra sp. I und II	18. 2. 57	+ (Pl)	+ (Pl)	+ (Pl)	+	+	±	1	1	1	1	1
Zygnema sp. I und II	22. 2. 57	+ (PI	+ (Pl)	+ (Pl)	+	+	+	1	1	1	1	1
Nitella mucronata	10.10. 56	+ (Pl)	+ (P1)	+ (Pl)	+ (Pl)	+	+	1	1	1	1	1
Bazzania trilobata	8. 10. 56	+	+	+	+	+	+	1	1	1	1	1
Bazzania trilobata	9. 10. 57	+	+	+	+	+	+	1	1	1	1	
Bazzania trilobata	25. 9. 58	+	+	+	+	+	+	+	1	1	1	
Lophocolea bidentata	16. 8. 57	+	+	+	+	+	+	(1)	1	1	1	
Chiloscyphus pallescens	2. 8.	+	+ (TP)	+ (TP)	+	+	+	1	1	1	1	1
Lophozia barbata	2. 8.	+	+	+	+	+	+	1	1	1	1	1
Lophozia Wenzelii	58 25. 9. 58	+	+	+		+	+	(1)	1	1	1	
Alicularia geoscypha	2. 8.	+	+	+	+	+	+	Ŧ	1	1	1	1
Alicularia geoscypha	58 25. 9.	+	+	+		+	+	±	1	1	1	
Haplozia lanceolata	58 10.10.	+	+	+	+	+	+	1	1	1	1	1
Haplozia lanceolata	56 16. 8.	+	(PI) +	(Pl)	+	+	+	1	1	1	1	
Plagiochila asplenioides	57 9. 10.	+	+	+	+	+	+	1	1	1	1	
Plagiochila asplenioides	57 2. 8.	+	+	+	+	+	+	(1)	1	1	1	1
Scapania nemorosa	58 8. 10.	+	+				1	1	1	1	1	1
	56 2. 8.	(Pl)	(Pi)	+	+	+		1	1	1	1	1
Scapania aspera	58 25. 9.	+	+	+	+	+	+	1	-			1
Scapania aspera	58 16. 8.	+	+	+	+	+	+	+	1	1	1	
Calypogeia trichomanis	57 25. 9.	+	+	+	+	+	+	(l) (TP)		1	1	
Calypogeia Neesiana	58 26, 8.	+	+	+		+	+	Ŧ	1	1	1	
Madotheca platyphylla	26. 8. 57	+	+	+	+	+	TP	1	1	1	1	

mol		1,0	0,5	0,3	0,2	0,1	$10^{-2}$	10-3	10-4	10-5	10-6	10-7
Fissidens taxifolius	10. 10. 56	+	+	+	+	+	1	1	1	1	1	1
Fissidens taxifolius	16. 8. 57	+	+	+	+	+	1	1	1	1	1	
Tetraplodon urceolatus	9. 10. 57	+	+ (Pl)	+ (Pl)	+	+	(1)	1	1	1	1	
Bryum capillare	25. 2. 57	+	+	+	+	+	± (TP)	1	1	1	1	1
Bryum capillare	26. 8. 57	+ (Pl)	+	+ (Pl)	+	+	(±)	1	1	1	1	
Bryum sp.	9. 10. 57	+	+	+	+	+	+	1	1	1	1	
Bryum ventricosum	2. 8.	+	+	+	+	+	+	+ TP	1	1	1	1
Rhodobryum roseum	2. 8.	+ (Pl)	+ (Pl)	+	+	+	+	1	1	1	1	1
Mnium punctatum	8. 10. 56	+	+	+	+	+	+	1	1	1	1	1
Mnium punctatum	16. 8. 57	+	+	+	+	+	(1)1	1	1	1	1	
Mnium undulatum	10. 10. 56	+ (Pl)	+ (Pl)	+	+	+	士	1	1	1	1	1
Mnium undulatum	25. 9. 58	+ (Pl)	+	+	+	+	+	1	1	1	1	
Mnium cuspidatum	16. 8. 57	+	+	+	+	+	(1)1	1	1	1	1	
Mnium Seligeri	2. 8. 58	+ (Pl)	+ (Pl)	+	+	+	+	± TP	1	1	1	1
Fontinalis antipyretica	27. 3. 57	+	+	+	+	+	+	1	1	1	1	
Hookeria lucens	16. 8. 57	+	+	+	+	+	+	1	1	1	1	
Hookeria lucens	8. 10. 56	+	+	+	+	+	1	1	1	1	1	1
Anemone hepatica	22. 3. 57	+ (Pl)	+ (Pl)	+ (Pl)	+	+	+	1	1	1	1	
Caltha palustris	27. 3. 57	+ (P1)	(P1) + (P1)	(PI) + (PI)	+	+	+	1	1	1	1	
Corydalis cava	22. 3. 57	(PI) + (PI)	(PI) + (PI)	(PI) + (PI)	+	+	+	1	1	1	1	
Astragalus glycyphyllus	26. 8. 57	+	+	+	+	+	+	1	1	1	1	
Malva neglecta	22. 8. 57	+ (P1)	+ (Pl)	+	+	+	+	1	1	1	1	
Salicornia herbacea	9. 9. 57	+	+	+	+	+	+	1	1	1	1	
Sueda maritima	9. 9. 57	+	+	+	+	+	1	1	1	1	1	
Rumex crispus	9. 9. 57	+ (Pl)	+ (PI)	+ (Pl)	+ (Pl)	+	(1)	1	1	1	1	
Polygonum lapathifolium	22. 8. 57	+ (Pl)	(Pl)	(PI) + (PI)	+	+	+	1	ı	1	1	
Cannabis sativa	22. 8. 57	(Pi) + (Pi)	(PI) + (PI)	(PI) + (PI)	+	+	+	1	1	1	1	

mol		0,1	0,5	0,3	0,2	0,1	10-2	10-3	10-4	10-2	10-6	10-2
Cyclamen europaeum	26 8. 57	+	+	+	+	+	+	1	1	1	1	
Mentha aquatica	27. 3. 57	+ (Pl)	+ (Pl)	+	+	+	±	1	1	1	1	
Aster tripolium	9. 9. 57	+	+	+	+	+	1	1	1	1	1	
Bidens tripartitus	26. 8. 57	+	+ (Pi)	+	+	+	+	1	1	1	1	
Solidago virgaurea	26. 8. 57	+ (Pl)	+ (Pl)	+	+	+	+	1	1	1	1	
Artemisia vulgaris	28. 8. 57	+ (Pl)	+	+	+	+	1	1	1	1	1	
Elodea canadensis	27. 3. 57	+ (Pl)	+	+	+	+	+	1	1	1	1	
Allium cepa Außenepid.	4. 10. 56	+ (Pl)	+ (Pl)	+ (Pl)	+	+	1	1	1	1	1	1
Allium cepa Innenepid.	23. 10. 57	+ (Pl)	+ (Pl)	+ (Pl)	+	+	+	1	1			
Rhoeo discolor	10. 10. 56	+ (Pl)	+ (Pl)	+ (Pl)	+ (Pl)	+	+ (TP)	1	1	1	1	1
Rhoeo discolor	25. 9. 58	+ (Pl)	+ (Pl)	+ (Pl)	+	+	+	1	1	1	1	
Arum maculatum	6.4. 57	+ (Pl)	+ (Pl)	+	+	+	+	1	1	1	1	

höheren Pflanzen leben von 20 untersuchten Spezies in 22 Fällen 17 bis zu 10<sup>−3</sup> mol, der Rest bis 10<sup>−2</sup> mol. In 36 Moosversuchen wurde (an 25 verschiedenen Spezies) die Grenze fünfmal bei 10<sup>−4</sup> mol gefunden, 21mal bei 10<sup>−3</sup> mol, der Rest hatte die Grenze bei 10<sup>−2</sup> mol.

Wir sehen also sowohl bei Moosen wie bei Blütenpflanzen eine bevorzugte Resistenzgrenze bei  $10^{-3}$  mol  $Na_{\circ}CO_{\circ}!$ 

Die Desmidiaceen sind nun entweder sehr resistent, wobei sie 48 Stunden in der ganzen Reihe leben oder nur in der höchsten Stufe absterben, zum Teil aber auch außerordentlich empfindlich; so Closterium Lunula und Micrasterias denticulata, welche Arten auch z. B. gegen Azid sehr empfindlich sind. Diese große Empfindlichkeit von Closterium Lunula ist in der Literatur mehrfach erwähnt (Loub 1951, Höfler 1951, Url 1955). Die Resistenzgrenze der beiden erwähnten Arten liegt aber so ungewöhnlich tief, daß man an eine Schädigung durch die Versuchsanordnung denken könnte, da ja weder die Sodakonzentration noch die pH-Werte dieser schwachen Lösungen einen besonderen Einfluß haben können. Gegen diese Annahme spricht allerdings der Umstand, daß in den Kontrollröhrchen alle Zellen der beiden Arten leben. Die Resistenzgrenzen der übrigen Desmidiaceen liegen teils unter, teils über der von Moos- und Blütenpflanzenplasmen bevorzugten Grenze von 10-3 mol. Interessant ist, daß in den beiden Versuchen, in denen Todeszonen beobachtet werden konnten, die Grenze im unteren Bereich für Tetmemorus granulatus bei 10-3, für Euastrum oblongum bei 10<sup>-2</sup> mol liegt, also nicht niedriger, sondern gleich bzw. etwas höher als die bevorzugte Grenze bei Moosen und Blütenpflanzen. In allen Sodakonzentrationen bis 1,0 mol leben nur zwei Desmidiaceenarten sowie die Grünalge Gloeococcus.

Schon in der Einleitung wurde darauf hingewiesen, daß die in den Reihenversuchen erfaßte Sodaresistenz natürlich im wesentlichen eine pH-Resistenz ist, da die konzentrierten Sodalösungen ja stark alkalisch sind. Die Ergebnisse der genauen pH-Messungen der Sodalösungen sind in der folgenden Tabelle 2 zusammengestellt.

Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>-Lösung

mol	1,0	0,5	0,3	0,2	0,1	0,01	10-3	10-4	10-5	10-6
I	11,5	11,45	11,4	11,35	11,2	10.6	9,8	8,7	6,9	6,5
II	11,5	11,45	11,4	11,25	11,2	10,8	10,15	9,2	6,7	6,0
III	11,45	11,3	11,2	11,15	11,05	10,35	9,3	6,45	5,5	5,0

In der Tabelle bedeutet I = Messung am 30. Oktober 1957, II = Messung am 22. September 1958, III = Messung derselben Reihe am 25. September 1958.

Man sieht, daß die schwachen Lösungen einen ziemlich niedrigen pH-Wert besitzen, vor allem aber gegen die Luftkohlensäure recht empfindlich sind. Die Tabelle macht es auch erklärlich, warum eine 10-4 molare Sodalösung praktisch in keinem Fall das Plasma schädigen kann. Das Natriumkarbonat an sich ist in dieser geringen Konzentration auf jeden Fall unschädlich, der pH-Wert der Lösung aber sinkt von anfangs 9,2 in den 2 Tagen, welche der Resistenzversuch dauert, auf 6,45 (vgl. auch Kaho 1956, S. 243)! Erst die nächst stärkere Lösung von 10-3 mol hält den pH-Wert während der Versuchsdauer überhaupt über dem Neutralpunkt. Bei dieser Lösung liegt nun die in den meisten Fällen zu beobachtende Resistenzgrenze. In der 10-2 molaren Lösung, welche einen pH-Wert über 10,3 (anfänglich 10,8) besitzt, sterben die Zellen ab. Wir können also festhalten, daß ein pH-Wert von etwa 10,3, vielleicht auch etwas darunter, bei längerer Einwirkung das Plasma der meisten Zellen, vor allem solcher von Blütenpflanzen und Moosen, tötet. Wie später gezeigt wird, ist es gleichgültig, auf welche Weise der pH-Wert erreicht wird. Auch Phosphatpufferlösungen führen zum gleichen Ergebnis.

Nun ist es seit langer Zeit bekannt, daß größere Alkalimengen sehr schädlich auf das Plasma wirken und es durch Verseifungs- und Zersetzungsvorgänge zum Absterben bringen. Eine größere Literatur beschäftigt sich mit der Wirkung von Alkalien auf das Pflanzenplasma (Schindler 1938, Höfler 1939, Cholnoky 1952a, b, 1953, Höfler 1951, 1953, Kaho 1956, ältere Literatur bei Lepeschkin 1939).

Die Frage nach der Giftwirkung der Alkalien ist zunächst eine Frage der

Permeabilität des Plasmas bzw. Plasmalemmas für dieselben. So zeigte schon Overton und später Brenner (1917—1918, zit. nach Lepeschkin 1937), daß starke Basen (z. B. KOH) nur sehr schwer in die Zellen dringen, selbst in kleinen Konzentrationen von 0,01 mol. Erst höhere Konzentrationen schädigen das Plasma (= Plasmalemma), dringen dann in das Plasma ein und töten es. Später zeigte aber Port (1926), daß auch kleinere Konzentrationen von KOH (0,001-0,005 mol) nach längerer Zeit, 8 bis 12 Stunden, das Protoplasma schädigen. Der in unseren Versuchen gewählte Zeitraum von 48 Stunden ist also auf jeden Fall so bemessen, daß auch bei den schwachen Konzentrationen mit einer Wirkung der OH-Ionen auf das Gesamtplasma zu rechnen ist. Daß es bei den starken Konzentrationen, besonders aber bei den hypertonischen, anders sein muß, ist klar. Hier ist bei den hochresistenten Desmidiaceen mit Höfler eine direkte Schutzwirkung des Plasmalemmas anzunehmen. In der Besprechung wird darauf zurückzukommen sein, doch soll schon hier festgehalten werden, daß viele Desmidiaceen plasmen nicht nur ein gegenüber hypertonischen Sodalösungen für lange Zeit abdichtendes Plasmalemma besitzen, sondern auch ihre plasmatische Alkaliresistenz gegenüber Moos und Blütenpflanzenplasmen vielfach deutlich höher ist.

Die Reihenversuche zeigten weiter, daß Moosplasmen eine durchaus ähnliche plasmatische OH-Resistenz besitzen wie Plasmen von Blütenpflanzen. Es wurde schon darauf hingewiesen, daß diese Tatsache überraschend war, da das Resistenzverhalten der Moose gegenüber Schwermetallen sehr ähnlich dem der Desmidiaceen ist und es so zu erwarten war, daß doch das eine oder andere Moosplasma

höhere Sodaresistenz aufweisen könnte.

\* \*

So war nun zu prüfen, ob Mooszellen zumindest anfänglich eine echte Sodaplasmolyse ertragen. Nach der aus den Ergebnissen der Schwermetallversuche zu ersehenden "Ähnlichkeit" der Plasmalemmen von Moosen und Desmidiaceen war dies jedenfalls zu erwarten. Die geringe plasmatische Resistenz der Moose gegen Soda widersprach dieser Erwartung nicht, es wurde schon mehrfach dargetan, daß geringe plasmatische Resistenz und Schutzwirkung des Plasmalemmas bei Einwirkung höherer Konzentration von Schwermetallsalzen Hand in Hand gehen können, wie es bei Fällen von Todeszonenbildung ja immer wieder zu beobachten ist (Url 1955, 1956). Auffällig war aber — wie erwähnt —, daß sich bei der Revision der Mooszellen nach 48 Stunden nur in seltenen Fällen Spuren vormaliger Plasmolyse fanden.

Zunächst wurden die Laubmoose Mnium punctatum, Hookeria lucens und die Lebermoose Lophocolea bidentata, Calypogeia trichomanis und Haplozia lanceolata (= Jungermannia lanceolata) in 0,7 molare Sodalösung eingetragen. Die Beobachtung begann nach 12 Minuten. Hookeria lucens war tot. Es waren keinerlei Plasmolysespuren zu sehen, das Plasma war

also sofort getötet worden. Nur einige wenige überlebende Tonoplasten waren zu sehen. Haplozia und Lophocolea sind nach 15 Minuten tot. Nach 20 Minuten sind bei Calypogeia einige primäre Tonoplasten zu sehen. Auch bei Mnium sind jetzt wohl die meisten Zellen tot, doch treten nach Zusatz von 1,5 mol KNO3 in etwa 10% der Zellen nach längerer Zeit Plasmolysen auf. Der Grund, warum die Zellen nach dieser Zeit noch leben, ist aber der, daß die Sodalösung noch nicht durch die Zellwand gedrungen war (vgl. Biebl 1954, Steinlesberger 1958). Ein Mnium-Stämmchen, welches 90 Minuten in der Sodalösung verweilte, zeigt beim nachherigen Plasmolyseversuch in KNO3 viele Tonoplasten, aber keine einzige lebende Zelle mehr.

Bei einem anderen Versuch wurde unter dem Mikroskop durch ein Hookeria-Präparat 1,0 molare Sodalösung durchgesaugt. Es treten schon nach 15 Sekunden vielfach osmotische Kollapse auf, die sich über mehrere Minuten erhalten. Das Plasma stirbt aber sofort ab. Ein Kontrollversuch in 1,5 mol KNO<sub>3</sub> ergibt sofort beste konvexe Plasmolyse in fast allen Zellen. Nach 25 Minuten sind auch hier viele Zellen abgestorben und sekundäre Tonoplastenstadien entstanden, Etwa 30% der Zellen sind noch normal plasmolysiert. Saugt man jetzt 1,0 mol Soda durch das Präparat, so erfolgt wieder eine leichte Eindellung der Zellwand und danach sofortiges Absterben der Protoplaste.

Auch bei Haplozia lanceolata zeigen besonders die Randzellen der Blättchen bei Durchsaugen von 1,0 mol Soda Eindellungen. Es tritt nirgends Plasmolyse auf. Zusetzen von 1,5 mol KNO3 ändert das Bild nicht. Die Zellen sind tot, die Ölkörper haben sich abgekugelt und verschwinden nach und nach. Im Kontrollversuch mit 1,5 KNO3 gibt Haplozia schöne konvexe Plasmolysen, nachträgliches Durchsaugen von 1,0 mol Soda bewirkt aug enblickliches Platzen und Absterben der Protoplasten. In vielen Fällen persistieren Tonoplasten. Dieses Bild ist bei Lebermoosen ganz typisch und findet sich allenthalben wieder.

Bei Calypogeia trichomanis sind gleiche Bilder zu beobachten. Hier schlüpfen die Tonoplasten vielfach aus dem Koagulum von Plasma und Plastiden heraus. Vorplasmolyse mit 1,2 mol Traubenzucker durch 12 Minuten und nachheriges Durchsaugen von 1,0 mol Soda ergibt dasselbe.

Plasmolysiert man Mnium punctatum durch 20 Minuten in 1,2 mol Traubenzucker und saugt dann 1,0 mol Soda durch das Präparat, so sterben die Zellen nicht so schnell ab wie bei Lebermoosen. Die Blättchen kamen nach 6 Minuten wieder in die Zuckerlösung zurück und wurden nach 5 Stunden besehen. Es zeigte sich, daß besonders die äußeren Zellen, welche von der Sodalösung leichter erreicht werden konnten, abgestorben sind, während die inneren plasmolysiert sind und leben. Wieder zeigt es sich, daß die Zellwand dem Eindringen der Sodalösung einen gewissen Widerstand entgegensetzt. Das verwundert nicht, stellte doch Biebl (1954) gerade an Mnium punctatum fest, daß selbst der so kleinmolekulare Harnstoff in unverletzte Blättchen viel langsamer eindringt als in angeschnittene. So ist es verständlich, daß die Zellwand auch den ziemlich großen Karbonationen mit ihrer zusätzlichen Hydrathülle das Eindringen erschwert. Die

Versuche an *Hookeria*, bei denen in Soda osmotische Kollapse auftraten, in KNO<sub>3</sub> aber nicht, sprechen aber vielleicht auch dafür, daß unter der Einwirkung der Soda die Zellwand irgendwie verändert und so das Eindringen erschwert wird.

Ein Sodaversuch an Mnium punctatum wurde unter dem Phasenkontrastmikroskop beobachtet. Die Chondriosomen sind hier sehr lang und zeigen nur sehr langsame Bewegung. Es wurde 1,0 molare Sodalösung verwendet. Nach 1 Minute tritt in den Randzellen einseitige Tonoplastenplasmolyse auf. Die Sphärosomen, vordem fast in Ruhe, tanzen jetzt in starker BMB. Nach 6 Minuten ist fast allgemein Tonoplastenplasmolyse eingetreten. In einer solchen Zelle sind die Chondriosomen jetzt stark verkürzt oder kugelförmig gerundet. Alles befindet sich in leichter BMB. Aus den Chondriosomen werden jetzt "Ringlein" oder "Näpfchen". Diese Nekrosebilder finden sich vielfach (Perner und Pfefferkorn 1953, Höfler und Url 1958, Bieblund Url 1958). Die BMB zeigt auch, daß das Plasma noch nicht koaguliert, sondern nur sehr stark aufgequollen ist. Über solche Vorgänge berichtet Cholnoky (l. c.) mehrfach.

Nach 13 Minuten sind in den Zellen keinerlei distinkte Gebilde mehr zu erkennen, sondern nur noch Ringlein und Blasen. Nach 20 Minuten wurde Wasser durch das Präparat gesaugt. Das verursachte sofortiges schwaches Ausdehnen, Platzen und Verschwinden der Tonoplasten. Auch die Reste der Chondriosomen verschwinden völlig und nur die Sphärosomen bleiben, teils

noch in leichter BMB, zurück.

Auch schwächere Sodalösungen bewirken sofortiges Absterben der Moosplasmen. So verursacht 0,5 molare Sodalösung bei Hookeria ebenfalls sofortigen Plasmatod, wobei wieder Tonoplasten übrigbleiben. Selbst wenn man ein Hookeria-Blättchen nur eine Minute in 0,5 mol Soda taucht, bilden sich beim nachherigen Plasmolyseversuch in Traubenzuckerlösung nur mehr Tonoplasten. Auch wenn man die Blättchen für eine Minute in nur 0,2 und 0,1 molare Soda bringt, treten in KNO<sub>3</sub>-Lösung nachher nur mehr Tonoplasten auf. Eintauchen für eine Minute in 0,1 molare Sodalösung und nachheriges Einlegen in Traubenzuckerlösung läßt aber einige Zellen am Leben. KNO<sub>3</sub> wirkt also etwas "synergetisch". Das überrascht nicht, denn bei längerer Einwirkungszeit ist ja reine KNO<sub>3</sub>-Lösung selbst auch für Hookeria schädlich (vgl. auch Biebl 1940). Einbringen von Blättchen in 0,01 und 0,001 mol Soda für eine Minute und nachherige Plasmolyse in KNO<sub>3</sub> läßt überall normale Plasmolyse eintreten. Die niedrigere der beiden Konzentrationen wird von Hookeria dauernd ertragen.

Weitere Versuche wurden mit frisch gesammeltem  $Bryum\ c\ a\ pill\ ar\ e$  angestellt. Es zeigte sich wieder, daß die Zellwand den Stoffdurchtritt hemmt. In KNO $_3$  tritt die Plasmolyse nur langsam von der Basis und der Mittelrippe der Blättchen aus ein. Eintauchen für eine Minute in 1,0 mol Soda läßt deshalb die Zellen am Leben. Fünf Minuten Aufenthalt in 0,5 mol Soda tötet die meisten Zellen. In KNO $_3$  treten nur primäre Tonoplasten auf. Bryum capillare wurde weiters für 5 Minuten in 0,1 und 0,3 mol Soda gebracht. Der Plasmolyseversuch in KNO $_3$  (1,5 mol) zeigt bei den Blättchen aus 0,3 mol etwa 10%  $\pm$  normale Plasmolysen. In den anderen Zellen

liegen meist Tonoplasten. In den Blättchen aus 0,1 mol Soda plasmolysieren eiwa 70% der Zellen, der Rest enthält Tonoplasten. Auffälligerweise sind

alle Rippenzellen tot.

Bei längerem Verweilen von Bryum capillare-Blättchen in 1,0 mol Soda treten überall Tonoplasten auf. Nur vereinzelte Zellen in der Nähe der Mittelrippe zeigen Ansätze echter Plasmolyse. Die Tonoplasten treten nun im Blättchen sehr regelmäßig auf, auch in der Nähe der Abrißstelle, wo die Sodalösung sofort mit voller Kraft auf das Plasma trifft. Dieser Umstand ist wichtig, denn er spricht ja dagegen, daß in den Flächenzellen das Plasma deshalb getötet wird, weil die Sodalösung zuerst in schwächeren Konzentrationen einwirkt, da sie, durch die Zellwand behindert, diese nicht sofort in voller Stärke durchdringen kann. Dadurch würde die Bildung einer schützenden "Oberflächenschicht", sei es durch Fällung oder Dehydratation im Sinne Kahos und Lepeschkins, verhindert, da schon früher geringe Sodamengen in das Plasma eindringen und es irreversibel schädigen, bevor es zur Bildung der Schutzschicht kommt. Bei Sodalösungen ist solches aber gar nicht zu erwarten, weil durch die hochalkalische Reaktion ja kaum eine verdichtende, sondern eine zersetzende und verseifende Einwirkung auf das Plasmalemma gegeben ist.

Madotheca platyphylla, das bekannte austrocknungsfähige Lebermoos (Höfler 1943, 1954) diente für eine weitere Versuchsreihe. In 1,5 molarer KNO<sub>3</sub>-Lösung tritt hier sofort konvexe Plasmolyse ein. Eine Minute Aufenthalt in 0,5 mol Soda tötet alle Zellen. 0,2 und 0,1 mol Soda töten in 1 Minute fast alle Zellen. Nur an der Basis der Blättchen leben kleine Zellgruppen. Erst bei 0,01 mol leben dann alle Zellen, aber das ist schon die Konzentration, die auch im Reihenversuch während 48 Stunden

ertragen wird.

Das für Lebermoose typische Bild ist wieder zu beobachten: Setzt man zu in 1,5 mol  $\mathrm{KNO_3}$  plasmolysierten  $\mathit{Madotheca}$ -Zellen 1,0 molare Sodalösung zu, so erfolgt augenblickliches Absterben der Protoplaste. Die vordem glatte Protoplastenkontur wird wellig-warzig und es erfolgt unmittelbar darauf Platzen.

Für Alicularia geoscypha und Calypogeia trichomanis zeigen die Abb. 1—8 das Ergebnis ähnlicher Versuche; die Versuchsdaten sind in den

Legenden enthalten.

Bei Haplozia lanceolata ist nach einer Minute Einwirkung von 0,2, 0,1 und besonders 0,01 mol Soda in einigen Zellen bei Zusetzen von 1,5 mol KNO<sub>3</sub> Plasmolyse zu beobachten, wobei das Plasma stark aufgequollen und starke BMB in diesem zu beobachten ist. 1,0 mol und 0,5 mol Soda töten alle Zellen. Auch bei diesem Moos sieht man, daß die nächsthöhere Konzentration über der Resistenzgrenze schon in einer Minute fast alle Zellen tötet.

Ahnliche Bilder gibt auch Plagiochila asplenioides. Wieder erhält man nach Soda-Vorbehandlung nur Tonoplastenplasmolysen. In einer Mischlösung von 1,5 mol Traubenzucker + 0,2 mol Soda treten zunächst ganz normale Plasmolysen auf, doch sterben die Zellen nach und nach ab, so daß nach rund 45 Minuten nur noch Tonoplasten übrigbleiben. Wie noch darzu-

tun bleibt, liegt der Grund für die anfängliche Unschädlichkeit in der Hauptsache darin, daß der Zucker den pH-Wert stark drückt.

Tetraplodon urceolatus und ein Bryum sp. sind gegen Soda nicht ganz so empfindlich wie die Lebermoose. In 0,5 mol Soda läßt sich in vielen Zellen anfänglich  $\pm$  normale Plasmolyse erzielen. Zahlreiche Zellen zeigen aber auch primäre Tonoplasten. Nach einigen Minuten sterben die Zellen aber alle ab. Dieses Bild ist für manche Laubmoose typisch.

Versuche der oben beschriebenen Art konnten im Juli 1958 an ganz frischem Material im Werkschulheim im Felbertal (Salzburg) fortgeführt wer-

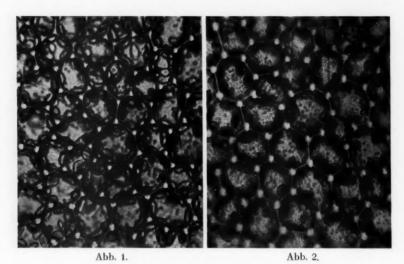


Abb. 1. Alicularia geoscypha, Blättchenzellen in normalem Zustand.

Abb. 2. Dieselbe Stelle, nachdem 10 Minuten eine 0,7 molare Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>-Lösung ein-

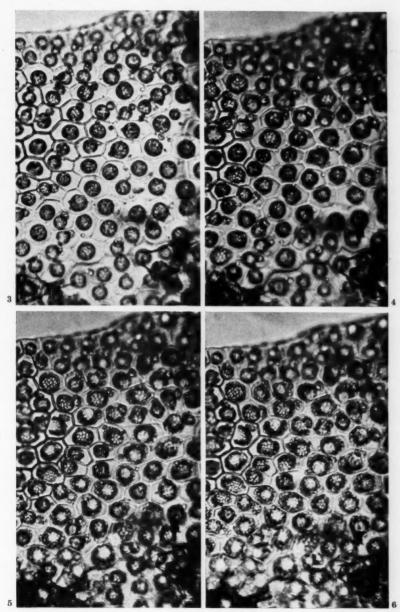
wirkte. Beginnende Nekrose (Zerfall in Tröpfchen) der noch gut erhaltenen Ölkörper.

den. Die Mocse waren bei einer Exkursion des Pflanzenphysiologischen Instituts, meist im Märchenwald (Amertal), unmittelbar vorher gesammelt worden.

Die verwendeten Moose waren: Plagiochila asplenioides, Calypogeia Neesiana, Lophozia Wenzelii, Lophozia lycopodioides, Radula complanata, Haplozia lanceolata, Lophocolea heterophylla, Mnium punctatum und Schistostega osmundacea. Es wurde meist mit 1,7 mol Traubenzucker vor-

Abb. 3—6. Calypogeia trichomanis: Abb. 3. Plasmolysiert in 1,55 mol KNO<sub>3</sub>. Abb. 4. Dieselbe Stelle, etwa 3—4 Sekunden nach Durchsaugen einer 1,0 molaren Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>-Lösung. Die Protoplasten beginnen abzusterben, einzelne überdauernde Tonoplasten sind schon zu sehen. Abb. 5. Etwa 5—6 Sekunden nach dem Durchsaugen, Tonoplasten gut sichtbar. Abb. 6. 4 Minuten nach dem Durchsaugen der Sodalösung. Das Bild hat sich kaum verändert.





plasmolysiert und dann 1,0 oder 0,5 mol Soda durchgesaugt oder gleich in Soda eingelegt mit darauffolgendem Plasmolyseversuch. Es zeigten sich wieder die schon beschriebenen Bilder: bei vorplasmolysierten Zellen sofortiges Absterben beim Zutritt der Sodalösung, bei vorher in Soda gelegenen Zellen beim Plasmolyseversuch nur Tonoplastenbildung. Allgemein war ein mehr oder wenigen langes Persistieren der Tonoplasten zu beshachten

oder weniger langes Persistieren der Tonoplasten zu beobachten,

Vorplasmolyse in 1,7 mol Traubenzucker und nachheriges Durchsaugen von 0,5 mol Soda gibt bei Lophocolea heterophylla ein zellphysiologisches Bild, das zuweilen auch bei anderen Moosen zu beobachten war. Das Plasma stirbt bei Zutritt der Sodalösung sofort ab und viele Tonoplasten persistieren. Dort, wo auch die Tonoplasten platzen, tritt sofort eine diffuse Grünfärbung des Zellumens auf. Bringt man die in den klaren Zellen liegenden Tonoplasten — etwa durch Drücken mit einer Nadel — zum Platzen, so tritt die Grünfärbung sofort auf. Es handelt sich also um eine Reaktion von Zellsaftstoffen mit der Sodalösung. Interessant war aber, daß in einzelnen Zellen, die sonst ganz klar waren, diffus grüne Tonoplasten lagen! Vielleicht war der Tonoplast hier für Soda in gewissem Maß permeabel geworden.

Höfler (1951) beschreibt eine ähnliche Erscheinung. 15—20 Minuten nach Einlegen von Schnitten von Rumex sanguineus in 0,5 molare Soda-

lösung zeigen Tonoplasten in der Epidermis Gelbfärbung.

Eigene orientierende Versuche mit Rumex crispus und Aster tripolium ergaben ähnliche Bilder. Plasmolyseversuche mit Stengelschnitten dieser Pflanzen zeigten auch besonders schön den von Höfler beschriebenen Resistenzunterschied zwischen Epidermis und Subepidermis. Bei Rumex crispus tritt nach Zusetzen von 0,7 mol Soda überall sofort Plasmolyse ein. Nach etwa 3 Minuten beginnt das Plasma der Epidermiszellen aufzuguellen und etwas später, nach 7-9 Minuten abzusterben. Zu diesem Zeitpunkt ist die Subepidermis bestens plasmolysiert. Nach 15 Minuten lebten in der Epidermis nur mehr etwa 10% der Zellen. Besonders die Nebenzellen der Stomata waren meist noch normal plasmolysiert. Selbst nach 25 Minuten war die Subepidermis hingegen noch gut plasmolysiert. In der Epidermis ist zu diesem Zeitpunkt fast alles abgestorben, viele Tonoplasten persistieren und sind in der oben erwähnten Weise verfärbt. Selbst nach über 1½ Stunden sind in der Subepidermis noch viele Zellen plasmolysiert. Bei Aster tripolium verlief der Plasmolyseversuch in 0.7 mol Soda gleichsinnig, doch sind die Zellen weniger resistent und sterben entsprechend früher ab, die Epidermiszellen z. B. schon nach 4-5 Minuten. Plasmatische Unterschiede zwischen Zellen der Epidermis und denen der Subepidermis bzw. tiefer liegenden Schichten sind in jüngerer Zeit auch durch andere Versuche bekanntgeworden (z. B. Kasy 1951, Url 1951, 1952 a, b, vgl. Reuter

Weitere Versuche konnten an Moosen aus dem Gebiet von Golling (vgl. Herzog und Höfler 1944) angestellt werden. Es handelt sich um Scapania aspera, Plagiochila asplenioides, Chiloscyphus pallescens, Lophozia barbata, Rhodobryum roseum, Bryum ventricosum und Mnium Seligeri. Die Ergebnisse waren die gleichen.

Alle diese Versuche zeigen, daß Moosplasmen gegen Soda-

lösung sehr empfindlich sind. Wie erwähnt, ist der Grund der hohe pH-Wert der Lösungen und nicht etwa eine spezifische Sodawirkung. Das Na-Ion ist ja ziemlich unschädlich (Plasmolyse mit NaCl!) und auch das CO<sub>3</sub>-Ion ist nicht giftig. Trotzdem wurden noch einige Versuche angestellt, bei denen die alkalische Reaktion durch andere Stoffe, NaOH und Puffer (Phosphatpuffer), erreicht wurde.

Die Reihenversuche hatten gezeigt, daß der kritische pH-Bereich, besonders auch für Moosplasmen, bei oder über 10 liegt. Wie verhält sich nun das Plasma der Moose gegenüber alkalischen Lösungen anderer Stoffe?

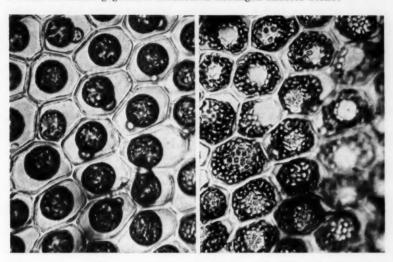


Abb. 7.

Abb. 8.

Abb. 7. Calypogeia trichomanis, plasmolysiert in 1,35 mol KNO<sub>3</sub>.

Abb. 8. Dieselbe Stelle, 2 Minuten nach dem Durchsaugen einer 1,0 molaren Sodalösung. Verschiedene Tonoplastenstadien. Die Ölkörper werden durch die Sodalösung sofort zerstört.

Zunächst wurden an Chiloscyphus pallescens Plasmolyseversuche mit Mischlösungen vorgenommen. In 1,8 TZ (Traubenzucker)  $+ n/100 \,\mathrm{NaOH}$  plasmolysieren alle Zellen und bleiben für längere Zeit am Leben. Das war zu erwarten. Denn durch den Zuckerzusatz wird der pH-Wert der reinen NaOH, der bei rund 12 liegt und damit sehr schädlich wäre, auf 9.45 gedrückt, welcher durchaus unter dem kritischen Bereich liegt. Die starke Drückung des pH-Wertes der Lauge durch den Zucker ist darauf zurückzuführen, daß der Zucker gegen die NaOH als schwache Säure wirkt. Weiters ist bei Mischlösungen aus Zucker und Alkali aber die Bildung verschiedener Umsetzungsprodukte der Glukose zu beachten. Nach P et u e l y und M e i x-n e r (1953) bilden sich bei Einwirkung von NaOH auf Glukose schon in kurzer Zeit beträchtliche Mengen von Stoffen, die alle endiolatisierte Carbonylverbindungen darstellen. Im einzelnen sind sie noch nicht bekannt,

doch sind es wahrscheinlich Verbindungen, deren Carbonylgruppen nicht vollständig hydratisieren und auch innere Acetalbildung eingehen. Es sind wahrscheinlich Kettenbruchstücke der Glukose. Meine Zuckerlösungen mit dem stärksten NaOH-Zusatz (n/1) wurden schon nach 1—2 Tagen gelblich. Auch das zeigt die Entstehung von Substanzen mit Doppelbindungen an.

Auch der mit 1,8 mol TZ + n/10 NaOH (pH 10,65) durchgeführte Plasmoluseversuch an Chiloscyphus verlief vital, und erst die Mischlösung von 1,8 TZ + n/1 NaOH (pH 12,05) tötet sofort alle Zellen. Nach 2—3 Minuten erscheinen einige Tonoplasten. Nach 11 Minuten zeigen noch rund 30% der Zellen Tonoplasten. In den abgestorbenen Zellen schrumpft der Inhalt jetzt zusammen. Im gleichzeitig durchgeführten Reihenversuch lebte das Moos bis 0,01 mol Soda, also bis etwa pH 10; keinesfalls aber mehr in pH 10,35, bis zu welchem Wert die 0,01 molare Sodalösung durch die Einwirkung der Luftkohlensäure sinkt (von anfänglich 10,8). Chiloscyphus pallescens läßt sich nun in der Mischlösung mit pH 10,65 plasmolysieren. Bei der hohen Zuckerkonzentration ist hier aber mit einer antagonistischen Wirkung dieses Stoffes zu rechnen. Auf die Befunde K a hos (1956 a, b), welcher die Wirkung von verschiedenen Zuckern bei der Einwirkung von Alkalien auf das Plasma behandelt, wird in der Besprechung zurückzukommen sein.

Eine weitere Versuchsreihe wurde mit KNO<sub>3</sub>-Lösung durchgeführt. Hier erfolgt natürlich keine Pufferung der Lauge. Die reine 1,35 molare KNO<sub>3</sub> wirkt auf die Zellen auch etwas schädlich. Nach 40 Minuten zeigen einzelne Zellen Tonoplasten, am nächsten Tag ist alles tot und nur zahlreiche Tono-

plasten bleiben übrig.

In der Mischlösung 1,35 KNO<sub>3</sub> + n/NaOH (pH 11,85) und auch in 1,35 KNO<sub>3</sub> + n/10 NaOH (pH 12,8) sterben sofort alle Zellen ab, selbst Tonoplasten treten nicht auf. Bei Anwendung von 1,35 KNO<sub>3</sub> + n/1000 NaOH (pH 11,0) jedoch, gibt es zunächst normale Plasmolysen. Erst nach 2 Minuten beginnen die Zellen abzusterben. Sekundäre Tonoplasten treten auf. Nach 5-7 Minuten gibt es nur mehr Tonoplasten. Nach 30 Minuten sind noch einige Tonoplasten erhalten, auffälligerweise sind aber in den ganz jungen Blättchen und im Stämmchen noch normal plasmolysierte Zellen zu beobachten. Erst nach 1 Stunde ist alles tot. Dieser Versuch ist deshalb interessant, weil trotz des hohen pH-Wertes und trotz der Verwendung des an sich selbst schon etwas schädlichen KNO3 zunächst wenn auch nur für sehr kurze Zeit — echte Plasmolysen auftreten. Es liegt hier wahrscheinlich eine antagonistische Wirkung des KNO<sub>3</sub> vor, und zwar wohl derart, daß durch den hohen osmotischen Wert der Lösung eine Art Verdichtung des Plasmalemmas, etwa durch Dehydration, eintritt, wodurch der NaOH für kurze Zeit der Weg ins Plasma verlegt wird bzw. das Plasmalemma etwas widerstandsfähiger wird.

Die schädliche Wirkung stark alkalischen Milieus zeigt sich auch bei Verwendung von Phosphatpuffern. Aus m/15 Stammpuffern wurde eine Mischlösung mit 1,25 mol KNO $_3$  bereitet. Die Stammpuffer hatten einen pH von 11,85, 11,1 und 10,75, die entsprechenden Mischlösungen einen pH-Wert von 11,35, 10,55 und 10,35. Die Pufferkonzentration war etwa m/100. Bei Zutritt der höchstalkalischen Mischlösung zum Plasma von Chi-

loscyphus stirbt dieses ebenfalls sofort ab. Es treten primäre Tonoplasten auf. Wieder finden sich in den Stämmchenzellen für einige Zeit normale Plasmolysen.

Die Mischlösung mit pH 10,55 tötet etwa die Hälfte der Zellen, wobei dort primäre Tonoplasten auftreten. Die jüngeren Blättchen sind resistenter. Hier gibt es mehr normale Plasmolysen. Nach 5—6 Minuten beginnen die plasmolysierten Zellen abzusterben, wobei sekundäre Tonoplastenstadien entstehen. Im Stämmchen finden sich noch nach 20 Minuten normale Plasmolysen. Beim Plasmolyseversuch mit der auf 10,3 gepufferten Mischlösung treten zunächst nur normale Plasmolysen auf. Nach 5—4 Minuten bilden sich in den älteren Blättchen einzelne sekundäre Tonoplasten, doch sind noch nach 30 Minuten viele Zellen normal plasmolysiert.

Chiloscyphus-Stämmchen, welche für 25 Minuten in die oben erwähnten Stammpuffer eingelegt wurden, starben sämtlich ab. An den Stämmchen aus den beiden niedrigeren Puffern läßt sich in einzelnen Zellen mit 1,8 mol Traubenzucker Tonoplastenplasmolyse erzielen. Bei Wiederholung dieses Versuches mit auf m/50 verdünnten Stammpuffern (die pH-Werte waren 11,35, 10,7 und 10,35), wobei die Stämmchen 35 Minuten in der Lösung verweilten, wurden die Zellen weniger geschädigt, In der alkalischesten Lösung war die Mehrzahl der Zellen tot, sie zeigten beim Plasmolyseversuch mit 1,8 Traubenzucker Tonoplasten. Etwa 30—40% der Zellen ließen sich normal plasmolysieren. In den beiden weniger alkalischen Lösungen plasmolysierten die meisten Zellen normal.

Höfler (1951) hat gezeigt, daß viele Desmidiaceen tagelange Sodaplasmolyse ertragen. Er arbeitete meist mit 0,5 bis 0,4 normalen, also 0,25 bis 0,2 molaren Lösungen, somit bei einem pH-Wert von rund 11, 4-11,5. Bei den Reihenversuchen lebten einige Arten nach 2 Tagen aber noch in viel konzentrierteren Lösungen. Einige Versuche mit NaOH-KNO3-Mischlösungen zeigten, daß manche Desmidiaceen noch bei wesentlich höherem pH anfängliche Plasmolyse ertragen. Frisches Hochmoormaterial aus dem RMK (Moor in der Schladminger Ramsau, vgl. Höfler und Schindler 1951 u. a.) wurde im September 1958 in eine Mischlösung aus 0,8 mol KNO<sub>3</sub> + n/10 NaOH (pH 12,8!) eingetragen. Nach 3 Minuten sind viele Arten plasmolysiert, so Desmidium Smartzii, Pleurotaenium Ehrenbergii und verschiedene Cosmarien, z. B. C. tumidum. Die Closterien werden sofort getötet. Ein gleicher Versuch mit 0,8 KNO<sub>3</sub> + n/100 NaOH (pH 11,95) brachte folgendes Ergebnis: Es plasmolysieren Desmidium Swartzii, Pleurotaenium Ehrenbergii, viele Cosmarien, Staurastren und Eurastrum oblongum sowie auch Closterium striolatum. Letzteres stirbt nach 3-4 Minuten ab. Closterium Dianae hält sich länger in plasmolysiertem Zustand. Nach 8 Minuten sind noch plasmolysiert: Micrasterias pinnatifida, Micrasterias fimbriata, Cosmarium tumidum, C. orthostichum, C. tetraophthalmum und Hyalotheca dissiliens, weiter Xanthidium armatum, Gymnozyga Brebissonii und Xanthidium antilopaeum. Micrasterias rotata ist tot.

Weiters wurde gleiches Algenmaterial in eine Mischlösung von 1,2 Traubenzucker + n/10 NaOH eingebracht. In dieser Lösung befindet sich also mehr NaOH als beim vorigen Versuch, der pH-Wert ist wieder durch den

Zucker stark gedrückt und beträgt 10,9. In dieser Lösung sind noch nach 45 Minuten viele Desmidiaceen am Leben, so Xanthidium armatum, Pleurotaenium nodulosum, Micrasterias truncata, Gymnozyga Brebissonii, Tetmemorus granulatus sowie verschiedene Cosmarien und Staurastren.

Mischlösungen mit Glyzerin sind natürlich unschädlicher als solche mit KNO<sub>3</sub>. Glyzerin drückt den pH-Wert auch weniger als Zucker. Eine Mischlösung aus 1,5 mol Glyzerin + n/10 NaOH hat pH 12,1. Viele Desmidiaceen plasmolysieren in dieser Lösung normal. Sofort stirbt Closterium striolatum und Micrasterias denticulata. Nach 20 Minuten leben noch Cosmarium ellipsoideum, teilweise Euastrum oblongum und Micrasterias pinnatifida sowie viele Exemplare von Staurastrum Dickiei, Arthrodesmus convergens, Cosmarium pyramidatum, Tetmemorus granulatus, Tetmemorus Brebissonii, Pleurotaeniopsis turgidus, Desmidium Swartzii und Euastrum cuneatum.

Ein Plasmolyseversuch an Blättchen von Lophozia Wenzelii mit 1,5 Glyzerin + n/100 NaOH (pH = 11,05) ergab zunächst 90% normale Plasmolysen und 10% primäre Tonoplasten. Erst nach 3—4 Minuten beginnen die Zellen abzusterben. In 1,5 Glyzerin + n/1000 NaOH (pH = 10,1) bleiben die Zellen lange am Leben, in 1,5 Glyzerin + n/10 NaOH (pH = 12,1) sterben sofort alle ab. Wieder ist bei der mittleren Lösung eine gewisse antago-

nistische Wirkung des Plasmolytikums zu beobachten.

Ein auffälliges zellphysiologisches Bild ergab sich bei Mnium undulatum bei einem Plasmolyseversuch mit 1,5 mol Glyzerin + n/10 NaOH (pH = 12.1) (Abb. 9, 10). Ein junges, im Kulturglas gewachsenes Blättchen wurde mit einem scharfen Scherchen abgeschnitten. Unter dem Deckglas wird nachher die Lösung durchgesaugt. Vom Schnittrand dringt nun die Lösung zu den Zellen. Diese werden nicht sofort getötet, sondern plasmolysieren zunächst, platzen jedoch etwa nach 1 Minute. Für die Lösung sind nur die inneren Querwände durchlässig, nicht jedoch die äußere Zellwand (vgl. Biebl 1954!) So wandert jetzt eine schmale Zone plasmolysierter Zellen in das Blatt herein. Abb. 9 und 10 zeigen dasselbe Blättchen. Abb. 10 wurde 3 Minuten nach Abb. 9 aufgenommen. Wenn man den kleinen schwarzen Fleck in der Nähe der Blattrippe als Merkpunkt nimmt, sieht man deutlich, daß in dieser Zeit die plasmolysierte Zone ein kleines Stück ins Innere des Blättchens gewandert ist. Vor dieser Zone liegen noch gesunde, unplasmolysierte Zellen, dahinter abgestorbene geplatzte Protoplasten. Dieser Vorgang währt natürlich nur eine gewisse Zeit. Dann tritt auch in den weiter der Spitze zu gelegenen Blättchenteilen Plasmolyse und Absterben ein, so daß sich das Bild der wandernden plasmolysierten Zone verwischt.

Mit reiner 1,0 molarer Sodalösung gelingt der Versuch nicht so schön. Auch hier tritt vom Rand aus die Lösung zu, und es erfolgt ein fortschreitendes Absterben, aber es ergeben sich keine so klaren Plasmolysebilder, die Zellen sterben viel schneller. Wieder sieht man eine antagonistische

Wirkung des Plasmolytikums!

An einigen Moosen sowie an Epidermen von Rhoeo discolor wurden vergleichende Resistenzuntersuchungen in gestuften Phosphatpuffern und Sodalösungen vorgenommen, wobei die Einwirkungszeit

wieder 48 Stunden betrug. Rhoeo sowie die Moose Chiloscyphus pallescens, Plagiochila asplenioides und Hookeria lucens kamen in eine übliche Sodareihe und in eine Reihe von Pufferlösungen mit den pH-Werten 7,0, 7,5, 9,1, 10,2, 11,05, 11,4, 11,6 11,7. In der Sodareihe zeigte sich wieder die typische Grenze bei 0,001 mol. In 0,01 mol traten bei Hookeria in 1,5 mol Glyzerin Tonoplasten auf. Bei Plagiochila war hier anfänglich in den jüngsten Blätt-

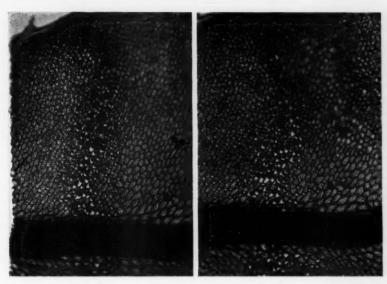


Abb. 9.

Abb. 10.

Abb. 9 und 10. Mnium undulatum, Plasmolyse in einer Mischlösung 1,5 mol Glyzerin + n/10 NaOH (pH = 12,1). Abb. 10 wurde etwa 5 Minuten nach Abb. 9 aufgenommen,

chen normale Plasmolyse zu beobachten. In der Pufferreihe lebten die Zellen bis pH 9,1. Chiloscyphus war auch hier schon abgestorben und zeigte beim nachherigen Plasmolyseversuch nur mehr Tonoplasten. Bei pH 10,2 war alles tot. Was den pH-Wert betrifft, stimmen also die Lebensgrenzen in den beiden Reihen sehr gut überein. 0,001 mol Soda hat ja ein pH von 9,3—9,8, 0,01 mol aber über 10,0. Auffällig war, daß in beiden Reihen in der niedersten, die Zellen tötenden Stufe (also bei einem pH von rund 10) bei Rhoeo die Leukoplasten stark braun verfärbt waren. Auch die Zellen von Hookeria zeigten braunen Inhalt und bei Chiloscyphus war der Zellsaftraum leicht violett gefärbt. Diese Erscheinung findet sich in den höher alkalischen Lösungen nicht mehr.

Ein ausführlicherer Versuch dieser Art umfaßte Rhoeo und sieben Moosarten. Zusätzlich wurde Desmidiaceenmaterial in die Pufferreihe eingebracht, welcher auch saure Stufen angeschlossen waren. Die Pufferlösungen wurden frisch bereitet, gemessen und 3 Tage nach der Beendigung des Versuches noch einmal gemessen. Die Werte der Pufferreihe enthält die folgende Tabelle 3. Diese Werte gelten für aus den m/15 Stammpuffern hergestellte m/40—m/45 Lösungen, welche zum Versuch dienten.

Tab. 3. pH-Werte der Pufferlösungen Stammlösungen hergestellt aus cm<sup>3</sup>

Prim. Phosphat	2,0	9,8	7,0	5,8	5,2	4,8	4,0	2,5	0,5
Tert. Phosphat	_	_	3,0	4,2	4,8	5,2	6,0	7,5	9,5
n/10 HCl	8,0	0,2	_	_	_	_	_	_	_
Erste Messung	1,95	3,7	7,05	7,65	8,9	10,4	11,0	11,4	11,75
Nachmessung	1,95	3,7	7,0	7,55	8,5	10,2	10.9	11.35	11.65

Tabelle 4.

	Rhoeo discolor	Mnium undulatum	Lophozia Wenzelii	Scapania aspera	Alicularia geoscyphus	Bazzania trilobata	Calypogeia Nezisana
Puffer							
1,95	+	士	1	1	I	1	1
3,7	1	1	1	1	1	1	1
7,05	1	1	1	1	1	1	1
7,65	1	1	1	1	1	1	(1)
8,9	1	1	1	<b>=</b>	1	1	Ŧ
10,4	+	1	+	+	+	+	+
11,0	+	±	+	+	+	+	+
11,4	+	+	+	+	+	+	+
11,75	+	+	+	+	+	+	+
Soda/mol				i i			
$10^{-6} - 10^{-4}$	1	1	1	1	1	1	1
10-3	1	1	1	1	土	1	Ŧ
$10^{-2}$	+	+	+	+	+	+	+
10-1	+	+	+	+	+	+	+
0,3	+(P1)	+	+	+	+	+	+
0,5	+(P1)	+	+	+	+	+	+
1,0	+(P1)	+(P1)	+	+	+	+	+

Die Röhrchen mit dem Desmidiaceenmaterial wurden in einen mit Natronkalk beschickten Exsikkator gestellt, um die Luftkohlensäure abzufangen.

Das Ergebnis der Versuche mit Rhoeo und den Moosen zeigt Tabelle 4. Man sieht, daß die Grenzen im alkalischen Bereich wieder ziemlich übereinstimmen. In den sauren Puffern lebt alles außer Rhoeo und Mnium undulatum, welche im Puffer von pH 1,95 absterben.

Der Pufferreihenversuch bei den Desmidiaceen brachte folgendes Ergebnis: Von den zumeist vorgefundenen Arten, wie Micrasterias truncata, M. denticulata, Pleurotaenium truncatum, Pl. nodulosum, Desmidium Swartzii, D. cylindricum, Xanthidium armatum, X. cristatum, Tetmemorus granulatus, Closterium dianae, Cl. didymotocum, Hyalotheca dissiliens, Cosmarium pyramidatum, C. connatum, C. tetraophthalmum, C. tumidum,

Arthrodesmus incus, Pleurotaeniopsis turgidus, Gymnozyga Brebissonii, Euastrum cuneatum und Staurastrum quadrangulare waren bei pH 1,95 viele abgestorben! Gute Plasmolyse zeigten Pleurotaenium truncatum, Xanthidium armatum und cristatum, Desmidium Swartzii, Tetmemorus granulatus und Staurastrum quadrangulare. Tot waren vor allem die Micrasterien, Closterien und viele kleine Cosmarien. In pH 3,7 war ebenso wie in pH 7,05 und 7,65 alles am Leben.

Schon in pH 8,9 sterben aber viele Arten ab. Es leben hier besonders Closterium striolatum, Desmidium Smartzii, Pleurotaenium nodulosum und truncatum, Cosmarium tetraophtalmum, nur teilweise dagegen Desmidium cylindricum, Xanthidium armatum und Gymnozyga Brebissonii. Tot waren Closterium dianae, die Micrasterien, Xanthidium antilopaeum und Pleuro-

taenium Ehrenbergii.

In pH 10,4 sind die meisten Arten abgestorben. Man findet noch einzelne plasmolysierbare Zellen von Xanthidium armatum, Euastrum cuneatum, Cosmarium pyramidatum und Euastrum sinuosum. Ein ähnliches Bild zeigt sich in pH 11,0. Hier plasmolysieren einige Zellen von Euastrum sinuosum, Cosmarium pyramidatum und C. globosum.

In 11,4 finden sich nur einige plasmolysierbare Cosmarium globosum-

Zellen. Alles tot ist in pH 11,75.

Der Versuch zeigt, daß die Desmidiaceen in Phosphatpuffern weniger resistent gegen hohen pH sind wie in Sodalösungen. Ein pH von 11,75 wird allerdings von Sodalösungen bis 1,0 mol nicht mehr erreicht.

\*

Zuletzt soll das Ergebnis eines Versuches mit Kaliumoxalat besprochen werden. Mit dieser Substanz hat Weber (1932, 1934) Tonoplastenplasmolysen an verschiedenen Objekten erhalten. Weber zeigte, daß die durch das Oxalat verursachte Ca-Fällung und die infolge des Ca-Mangels nicht mehr mögliche "surface precipitation reaction" (Heilbrunn 1927, 1930) die Ursache ist. Schon eine 1 Minute lange Vorbehandlung in 0,1 mol Oxalat ließ Spirogyra-, aber auch Allium-Zellen, bei nachheriger Plasmolyse in Harnstoff absterben. Als besonders schädlich und seine Versuchszellen augenblicklich tötend beschreibt Weber den Plasmolyseversuch mit hypertonischer Kaliumoxalatlösung. Höfler (1951, S. 455) zeigte nun, daß die gegen Soda resistenten Desmidiaceen auch gegen Kaliumoxalat große Widerstandsfähigkeit zeigen, und viele Arten noch nach 24 Stunden, manche sogar noch nach 48 Stunden, in plasmolysiertem Zustand am Leben sind.

Ich habe verschiedene Moose, und zwar Bazzania trilobata, Lophozia Wenzelii, Calypogeia Neesiana, Scapania aspera, Alicularia geoscypha, Plagiochila asplenioides, Rhodobryum roseum und Mnium undulatum in 1,0 und 0,5 molare Kaliumoxalatlösung gebracht. Es zeigte sich, daß die gegen Soda so sehr empfindlichen Moose in Kaliumoxalatlösung durchaus anfängliche Plasmolyse ertragen! Nach 3½ Stunden waren die Lebermoose alle plasmolysiert und am Leben. Die Zellen von Rhodobryum waren abgestorben, es persistierten aber viele Tonoplasten. Mnium undulatum war

362 W. Url

anfänglich plasmolysiert gewesen, die Zellen starben dann aber ab. In 0,5 mol war das Bild ähnlich, hier lebten aber auch die Zellen der beiden Laubmose zum größten Teil. Bei 1,0 mol Kaliumoxalat scheint also besonders auch die starke Plasmolyse schädigend gewirkt zu haben.

Kaliumoxalat ist demnach für das Moosplasma viel weniger schädlich als Soda. Allerdings ist der pH-Wert der Lösungen sehr viel niedriger. Die mit Aqua bidest. (pH 4,5—4,8) hergestellten Lösungen hatten folgende pH-Werte: 1,0 mol: 8,15; 0,5 mol: 8,0. Diese Werte liegen also durchweg weit unter dem kritischen Bereich.

### Besprechung

Die Ergebnisse der vorliegenden Arbeit zeigen, daß die plasmatische Resistenz von Laub und Lebermoosen gegen Sodalösungen in der gleichen Größenordnung liegt wie jene von Blütenpflanzen. Die Resistenzgrenze liegt zumeist bei 10-3 mol. Dagegen sind Algenplasmen oft wesentlich resistenter. So lassen sich manche Desmidiaceenzellen — wie dies Höfler (1951) feststellte —, aber auch Zellen der Grünalge Gloeococcus baparicus (Url und Fetzmann 1959) - für Stunden und sogar Tage in Sodalösungen plasmolysieren. Doch ist in diesen Fällen eine Schutzwirkung des Plasmalemmas gegeben, durch welche das Eindringen der Sodalösung in das Plasma verhindert wird. Algenplasmen sind darüber hinaus aber auch vielfach gegen mittlere Konzentrationen widerstandsfähig, wo Zellen von Moosen und Blütenpflanzen absterben. Eine Abdichtung des Plasmas bei mittleren Konzentrationen ist aus dem Grund unwahrscheinlich, den auch Biebl und Rossi-Pillhofer (1954) diskutieren. Sie schreiben auf S. 129: "Es ist kaum anzunehmen bzw. nicht wahrscheinlich, daß z. B. bei einer letalen Konzentration von 0,1%, bei welcher die Lösung also zweifellos ins Plasma eingedrungen ist und dieses getötet hat, das Plasmalemma einer Konzentration von 0,01% den Eintritt verwehrt hat." (Man vgl. aber die Diskussion bei Url 1955, S. 226 f.)

Höfler schreibt 1951 bei der Besprechung der hohen Sodaresistenzen der Desmidiaceen auf S. 453: "Um eine "ökologische Resistenz" im Sinne Biebls kann es sich dabei nicht handeln. ... Unsere Algen leben im sauren Hochmoorwasser. Das spräche dafür, im dichten und resistenten Plasmalemma einen Ausdruck "konstitutioneller Resistenz" zu sehen. Wir kennen allerdings das Verhalten der Algen gegen andere Gifte noch nicht, und es wird experimentell zu prüfen sein, ob die kräftigen Plasmalemmen etwa auch eine Abdichtung der lebenden Protoplasten gegen andere gelöste Stoffe bewirken."

Aus den Versuchen mit Schwermetallsalzen und auch mit Azid wissen wir heute, daß manche Desmidiaceenplasmen tatsächlich auch gegen andere Stoffe sehr resistent sind, und auch, daß bei diesen Stoffen wieder im mittleren Konzentrationsbereich oft große Resistenz vorliegt. Was aber nun die Sodaresistenz der Desmidiaceen betrifft, ist nicht so sehr ihre hohe Widerstandsfähigkeit gegen hypertonische Lösungen ein Ausdruck besonderer konstitutioneller Resistenz, sondern gerade ihre echte plasmatische Resistenz in mittleren Konzentrationsbereichen. Es wurde schon mehrfach dargetan,

daß Plasmen, welche gegen hochkonzentrierte (meist hypertonische) Lösungen schädigender Stoffe resistent sind, nicht gleichzeitig auch gegen mittlere Konzentrationen resistent sein müssen. Das ist ja auch der Grund für das häufige Auftreten von Todeszonen. Es kann also ein empfindliches Binnenplasma, besonders bei Einwirken höherer Konzentrationen von schädigenden Stoffen, durch das Plasmalemma geschützt werden, welches aus bestimmten Gründen den Eintritt dieser Lösungen verwehrt, sei es durch Bildung einer irreversibel koagulierten Oberflächenschicht, durch Dehydratation im Sinne Kahos oder auf andere Weise.

Während Moose und Desmidiaceen gegenüber Schwermetallsalzen recht ähnlich geartete Resistenzeigenschaften besitzen, sind diese bei Sodalösungen schon im Reihenversuch ziemlich verschieden. Darüber hinaus ergab sich aber die überraschende Tatsache, daß Mooszellen durch Sodalösung praktisch nicht plasmolysiert werden können. Das war auch deshalb besonders auffällig, weil ja gerade im Verhalten gegen hypertonische Schwermetallsalzlösungen zwischen Moos und Algenplasmen große Parallelitäten festzustellen waren (Url 1955, 1956).

Außerdem sind Moosplasmen z. B. gegenüber Schwermetallsalzen, 2, 4-D (Biebl 1953), Systox (Schindler und Rücker 1956) und anderen Stoffen resistenter als Plasmen von Blütenpflanzen. Blütenpflanzenzellen lassen sich aber vielfach gut und sogar für längere Zeit in Soda plasmolysieren!

Beim Plasmolyseversuch mit Soda zeigten sich die Laubmoose vielleicht etwas resistenter als die Lebermoose. In einigen Fällen ließ sich bei Laubmoosen in manchen Zellen für ganz kurze Zeit echte Plasmolyse erzielen. Dagegen werden praktisch alle Lebermoosplasmen durch hypertonische, aber auch hypotonische Sodalösungen sofort getötet.

Besonders oft findet man bei Sodaversuchen das Überleben von Tonoplasten. Diese Erscheinung ist schon mehrfach beschrieben (vgl. Höfler 1951, Cholnoky 1952 a, b). Letzterer beschreibt Versuche mit KOH und findet dabei mehr oder weniger große Widerstandsfähigkeit der Tonoplasten gegen die Einwirkung des Alkali. Er vermutet, daß der Grund für die unterschiedliche Resistenz der Tonoplasten gegen Alkalien in einem mehr oder weniger großen Anteil von Eiweiß an ihrem Aufbau zu suchen ist. Auf jeden Fall zeigt das häufige Auftreten von Tonoplasten bei Sodaversuchen, daß die Tonoplasten wohl allgemein nicht so rein lipoider Natur sind, als oft angenommen wird (vgl. aber schon Mothes 1954, Lederer 1934). Andernfalls müßten sie der verseifenden Wirkung des Alkali leichter zum Opfer fallen.

Es wurde schon in der Einleitung darauf hingewiesen, daß der Grund für die schädigende Wirkung der Sodalösungen im hohen pH liegt. Wir können uns jetzt der Frage der Sodaresistenz im allgemeinen zuwenden. Eine Erklärung für die bevorzugte Lage der Resistenzgrenze bei 10<sup>-3</sup> mol wurde schon im Versuchsteil (S. 347) gegeben. Es wurde gezeigt, daß eine frische 10<sup>-4</sup> molare Sodalösung wohl einen pH-Wert von 9,2 besitzt, dieser aber während der 48 Stunden, welche der Reihenversuch läuft, auf 6,45 absinkt und somit völlig unkritisch wird. Wie aber Tab. 2 zeigt, sinken nach

364 W. Url

2 Tagen auch die pH-Werte der m/40 Pufferlösungen im alkalischen Bereich, ein Umstand, der sich bei den in Vitalfärbeversuchen meist verwendeten m/150-Puffern noch viel stärker bemerkbar machen wird. Abgesehen davon haben die verdünnten alkalischen Puffer einen niedrigeren Wert als die Stammlösungen, wie z. B. die Werte auf S. 360 zeigen. Das wird jedoch eigenartigerweise z. B. in vielen Vitalfärbearbeiten nicht beachtet, wo für die m/150-Puffer, welche aus den Stammpuffern durch Verdünnung auf ein Zehntel hergestellt sind, dieselben pH-Werte angegeben werden wie für die konzentrierten Ausgangslösungen. Diese Fehlerquelle kann nur durch Messen jeder Pufferstufe ausgeschaltet werden.

Die Schädlichkeit der höher konzentrierten Sodalösungen liegt also in ihrem hohen pH-Wert. Hier interessiert zunächst die große Sodaresistenz mancher Algenzellen. Wie ist diese zu erklären? Höfler (1951) nimmt an, daß die große Resistenz der Desmidiaceen gegen hypertonische Sodalösung auf einer geringen Soda-Intrabilität, also auf dem Besitz eines besonders dicht abschließenden Plasmalemmas beruht. Die Reihenversuche zeigten aber, daß manche Arten auch gegen mittlere Konzentrationen, etwa 10-2 und 10-1 mol, resistent sind, Konzentrationen, in welchen Moos- und Blütenpflanzenplasmen absterben. Es erhebt sich wieder die Frage, die schon bei der Schwermetallresistenz der Desmidiaceen diskutiert wurde (Url 1955). Dringen die mittleren Konzentrationen in das Desmidiaceenplasma ein, in welchem Fall dieses gegen pH-Werte von fast 11 resistent sein müßte, oder wirkt schon gegenüber diesen niedrigen Konzentrationen das Plasmalemma abdichtend? Die daraus folgende Frage ist aber die: Wie sollen wir uns eine solche Abdichtung vorstellen? Bei Schwermetallsalzen mit ihrer eiweißfällenden Wirkung ist die Bildung einer "irreversibel koagulierten Oberflächenschicht" im Sinne K a hos verständlich, aber doch nicht bei den hochalkalischen, verseifend und zersetzend wirkenden Sodalösungen. Aus diesem Grunde fehlen in den Sodareihenversuchen wohl auch die Todeszonen praktisch ganz. Selbst wenn wir - rein hypothetisch - für das Plasmalemma der Desmidiaceen besonders alkalifeste Eiweiße annehmen wollen, müssen Veränderungen irgendwelcher Art stattfinden, welche ein Eindringen der Sodalösung in das Binnenplasma verhindern. Am ehesten scheint noch ein Abdichtungseffekt unter der Einwirkung der stark hypertonischen Außenlösung wahrscheinlich zu sein, etwa durch Dehydratation im Sinne Kahos. Diese Vorstellung versagt aber bei den mittleren hypotonischen Konzentrationen. Die Frage, wie weit bei den widerstandsfähigen Algenplasmen die echte plasmatische Resistenz reicht und wo ein Abdichtungseffekt beginnt bzw. ob sich etwa beide überlagern, muß offen bleiben. Der mit Desmidiaceen vorgenommene Resistenzversuch in Phosphatpuffern (S. 360) weist vielleicht darauf hin, daß auch schon in hypotonischen Konzentrationen ein gewisser Abdichtungseffekt auftreten kann. Die mit m/40 molaren Puffern durchgeführten Versuche zeigten, daß die Desmidiaceen in den Puffern keine so hohen pH-Werte ertragen wie in Sodalösungen. Sie sterben schon in pH 10.4 und 11.0 größtenteils ab. Eine Sodalösung mit pH 11 ist aber bereits 1/10 molar! Höfler nimmt allerdings gelegentlich an (Höfler und Loub 1952), daß die Plasmalemmen der hochresistenten Desmidiaceen von vornherein "dicht" sind und dank ihrer Konstitution an sich eine Schutzwirkung ausüben. Bei solchen mit stärksten Plasmalemmen ausgestatteten Algen müßte eine Sekundärabdichtung, z. B. durch den dehydratisierenden Einfluß des osmotischen Wertes der Plasmolytika, eventuell nicht angenommen werden.

Das Bild der Reihenversuche wird dadurch kompliziert, daß wir bei den höchsten Sodakonzentrationen mit einer schädigenden Wirkung der überstarken Plasmolyse rechnen müssen (z. B. Tetmemorus granulatus, Euastrum

crassum, Euastrum oblongum, Euastrum humerosum).

In diesem Zusammenhang sei auch auf neuere Versuche Kahos (1956b) eingegangen. Er beschäftigt sich mit der antagonistischen Wirkung verschiedener Zucker und mehrwertiger Alkohole bei der Wirkung von Alkalien auf das Pflanzenplasma. Die antagonistische Wirkung wird darauf zurückgeführt, daß diese Stoffe eine Verdichtung der Plasmaoberfläche vermutlich durch Dehydratation verursachen und dadurch die Permeabilität der Alkalien herabsetzen 3.

Dieser Auffassung kann nicht voll und ganz zugestimmt werden. Kahos Tabellen zeigen nämlich auch die große Rolle des pH-Wertes. Je größer z. B. der Maltosezusatz zu einer m/75 NaOH-Lösung ist, desto größer wird die antagonistische Wirkung und desto mehr Rotkohlzellen bleiben am Leben (Kahos Tab. 1, S. 244). Kaho hat die pH-Werte sorgfältig gemessen. Für eine m/75 NaOH-Lösung gibt er pH 11,5 an. Bei Zusatz von 0,1 mol Maltose sinkt dieser Wert nun auf 11,2, bei Zusatz von 0,2 mol auf 11,0. Für das Zustandekommen der antagonistischen Wirkung sind also zumindest zwei Faktoren ausschlaggebend, nämlich Dehydratation (welche aber bei so geringen Konzentrationen nicht allzu stark sein wird) und Drückung des pH-Wertes.

Nun wirkt der Maltosezusatz aber nur dann antagonistisch, wenn durch ihn nicht die Lösung hypertonisch wird. In diesem Fall (beim Rotkohl Kahos ab 0,4 mol) werden die Zellen wieder stark geschädigt, obwohl der pH-Wert weiter sinkt (z. B. bei 0,8 mol Maltose auf 10,0). Kaho schreibt, daß diese hypertonischen Lösungen gewissermaßen synergetisch wirken. Der Grund ist wohl der, daß die Natronlauge bei der gleichzeitigen Plasmolyse — etwa im Sinne von Weber (1933) Plasmolysepermeabilität bzw.-intrabilität — leichter ins Plasma dringen kann. In einer vorangegangenen Arbeit (1956 a, S. 170) diskutiert Kaho die Frage der Plasmolyseschädigung und kommt zum Schluß, daß eine Antwort schwierig sei, weil in einigen Fällen die antagonistische Wirkung auch mit steigender Hypertonie wächst. Doch ist das, wie man aus Kahos Tabellen ersieht, nur dann

<sup>\*</sup> Troschin (1958), der mit zoologischen Objekten arbeitet, ist dagegen der Ansicht, daß die Schutzwirkung vieler Anelektrolyte darauf beruht, daß diese einen direkten stabilisierenden Effekt auf das gesamte Plasmaeiweiß — etwa in der Arteines Schutzkolloids ausüben. Er meint, daß sich der Schutzeffekt nicht vom osmotischen Standpunkt aus erklären läßt, da die Nichtelektrolyte ja in die Zellen dringen. Dieser Ansicht ist aber nicht zuzustimmen, insbesondere was die Disaccharide oder das Dextrin betrifft. Diese Stoffe, die sicher nicht oder nur sehr langsam permeieren, haben auch bei zoologischen Objekten die größte Schutzwirkung.

366 W. Url

der Fall, wenn die verwendeten Lösungen durch den starken Zusatz von Zucker schon in einen unkritischen pH-Bereich gedrückt wurden.

Kahos Angaben zeigen, daß für den Grad der Schädigung selbst die Art des Alkali in den meisten Fällen von keiner Bedeutung ist, sondern nur der pH-Wert: Er setzt seine Kontroll-Lösungen so an, daß die Rotkohlzellen darin in 5—10 Stunden abstarben. Der pH-Wert dieser verschiedenen Lösungen betrug dabei meistens 11,5!

Daß nicht so sehr die Menge des Alkali, sondern der pH-Wert für den Grad der Schädigung verantwortlich ist, zeigt der Desmidiaceenversuch mit

verschiedenen Mischlösungen (S. 357).

Auffallend sind in den Sodareihenversuchen die scharfen Resistenzgrenzen. Ein diesbezüglicher Versuch, der sich auf Allium-Außenepidermis bezieht, wurde schon an anderer Stelle erwähnt (Url 1957, S. 318). Bei den Moosversuchen zeigt sich dies besonders schön bei Madotheca platyphylla. Hier tötet schon 1 Minute Aufenthalt in 0,1 mol Soda das Plasma, während in der nächstniedrigeren Stufe von 0,01 mol die Zellen über 48 Stunden am Leben bleiben.

Die besondere Empfindlichkeit der Moosplasmen gerade gegen hohe pH-Werte ist auch aus den Ergebnissen von Versuchen mit Kaliumoxalat gut zu ersehen. Höfler (1951) zeigte, daß die gegen Soda so resistenten Desmidiaceen auch gegenüber Oxalat große Widerstandsfähigkeit aufweisen. Er schreibt auf S. 455: "Die Algen bewohnen das Ca-arme Hochmoorwasser. Ihr Plasmalemma hält dicht, auch wenn hypertonische Oxalatlösung einwirkt, die der Plasmaoberfläche doch alles Ca entziehen muß. Sollte die auffallend dauerhafte äußere Plasmagrenzschicht hier nicht durch Niederschlagsbildung mit Ca bedingt sein…?" und weiter "Es spricht dies für die Annahme eines Plasmalemmas, bei dessen Konstitution die Oberflächenfällung mit Ca keine entscheidende Rolle spielt — ja an dessen Aufbau Ca vielleicht gar nicht beteiligt ist."

Danach wäre die gleicherweise hohe Soda- und Oxalatresistenz nicht weiter verwunderlich, besitzt doch auch das Natriumcarbonat eine starke Ca-fällende Wirkung, wenn diese auch nicht so groß ist wie beim Oxalat. (Die Löslichkeitsprodukte sind für Ca-Oxalat 1,78.10-9, für Ca-Carbonat

 $0.87.10^{-8}$ .)

Die Versuche mit Kaliumoxalat an Moosplasmen zeigen nun, daß trotz der großen Fällwirkung diese sich in Kaliumoxalat plasmolysieren lassen, nicht jedoch in Sodalösungen. Wie erwähnt, liegen aber die pH-Werte der Oxalatlösungen um 8,9! Die Ca-fällende Wirkung des Oxalats ist also bei weitem nicht so schädlich für die Moosplasmen wie die verseifende Wirkung hochalkalischer Lösungen. Das trifft im übrigen wohl auch für Desmidiaceen- und Zygnemalenplasmen zu, denn Höfler (1951) schreibt, daß verschiedene Arten resistenter gegen Kaliumoxalat sind als gegen Soda.

Der Grund für die relativ große Oxalatresistenz der Moosplasmen ist nicht unmittelbar klar. Die von Höfler diskutierten Möglichkeiten sind wohl nicht ohne weiteres auf Mooszellen übertragbar. Auf jeden Fall sieht man aber, daß die Mooszellen — wie es ja auch die Schwermetallversuche ergeben haben — durchaus ein "festes" Plasmalemma

besitzen, welches aber — im Gegensatz zu den Algen — sehr empfindlich gegen hohep H-Werteist. Wenn Höfler (1951, S. 457) nun schreibt "So gibt uns die Soda-Resistenz ein Maß für die Ausbildung des Plasmalemmas", so ist dem nicht unbedingt zuzustimmen. Denn wenn wir unter "Ausbildung" mit Höfler hier vor allem eine Schutzwirkung gegen schädigende Agenzien verstehen wollen, so sehen wir ja zwar, daß Desmidiaceenplasmen wie auch Moosplasmen vielfach so ausgebildet sind, daß sie hohen Schwermetallsalzkonzentrationen widerstehen, dagegen Desmidiaceen oft ein hoch alkaliresistentes Plasmalemma besitzen, eine Eigenschaft, welche den Moosen völlig mangelt. Andererseits zeigen Moosplasmen manchmal große Kupferresistenz, während Desmidiaceen und auch andere Algen gegen dieses Element höchst empfindlich sind.

Wenn wir am Schlusse die bisherigen Ergebnisse der vergleichenden Untersuchung von chemischen Resistenzen verschiedener Pflanzengruppen überblicken, können wir einige große Züge ersehen, Zunächst sind im allgemeinen niedere Pflanzen resistenter als höhere. Das bezieht sich nicht nur auf Fälle, wo es auf die Schutzfunktion des Plasmalemmas ankommt, wie bei hohen Konzentrationen von Soda, Schwermetallsalzen oder Azid—auch die echte plasmatische Resistenz, aus der Widerstandsfähigkeit gegen mittlere Konzentrationen zu ersehen, ist größer. Die große Ausnahme bildet hier das Kupfer, gegen welches Algenplasmen unerhört empfindlich sind, selbst solche, welche gegen andere Stoffe überaus große Widerstandsfähigkeit besitzen, wie z. B. Gloeococcus bavaricus (Url und Fetzman 1959).

Moosplasmen sind wiederum resistenter als Plasmen von Blütenpflanzen. Das bezieht sich bei Schwermetallen sowohl auf die echte plasmatische Resistenz wie auch auf eine bei hohen Konzentrationen eintretende Schutzwirkung des Plasmalemmas (Bildung einer "irreversibel koagulierten Oberflächenschicht" im Sinne Kahos). Was die Sodaresistenz betrifft, ist die plasmatische Resistenz bei Moosen und Blütenpflanzenplasmen gleich, doch besitzt überraschenderweise das Plasmalemma der Blütenpflanzen eher eine Schutzwirkung gegen den hohen pH der Sodalösungen als das Plasmalemma der Mooszellen.

### Zusammenfassung

Es wurde in konzentrationsgestuften Sodalösungen die Resistenz von Plasmen verschiedener Pflanzen untersucht. Im allgemeinen zeigen die untersuchten Algen höhere Resistenz als Moose und Blütenpflanzen, Die höhere Resistenz der Algen ist nicht nur bei hypertonischen Lösungen zu beobachten, wo eine Schutzwirkung des Plasmalemmas das Eindringen der Soda in das Plasma verhindert, sondern auch in mittleren hypotonischen Konzentrationen.

Während Moos- und Blütenpflanzenplasmen im Resistenzverhalten gegen Schwermetallsalze, Natriumazid, Systox und auch andere Stoffe große Verschiedenheiten zeigen — Moosplasmen sind meist wesentlich resistenter —, ist dieses gegen Sodalösungen praktisch gleich.

Bei den Versuchen mit Sodalösungen wird im wesentlichen die pH-Re-

sistenz im alkalischen Bereich erfaßt. Eine bevorzugte Resistenzgrenze erscheint bei 10<sup>-3</sup> mol. Diese Sodalösung besitzt anfänglich ein pH von rund 10, welches aber während der 48stündigen Versuchsdauer auf unter 9,5 sinkt, erst die 10<sup>-2</sup> molare Lösung hält den pH-Wert über diese Zeit oberhalb 10 (Tab. 2, S. 347).

Ein pH-Wert von über 10 tötet bei längerer Einwirkung die meisten Plasmen, vor allem jene von Moosen und Blütenpflanzen. Daß nicht das Natriumkarbonat an sich, sondern der hohe pH-Wert schädigend wirkt, zeigt sich auch darin, daß es für den Grad der Schädigung gleichgültig ist, auf welche Weise die alkalische Reaktion erreicht wird. Pufferlösungen oder NaOH-Mischlösungen zeigen gleiche Wirkungen. Auch die Menge des Alkali ist von untergeordneter Bedeutung. Mischlösungen aus KNO<sub>3</sub> mit wenig NaOH-Zusatz wirken schädigender als Mischlösungen aus Zucker mit viel NaOH, wobei der pH-Wert durch den Zucker stark gedrückt wird.

Während bei Blütenpflanzen und Algen fast allgemein wenigstens anfänglich Plasmolyse mit Sodalösungen erreicht werden kann, werden Mooszellen fast durchweg sofort getötet. Diese Tatsache ist deshalb überraschend, weil einerseits Moos- und Algenplasmen im Verhalten gegenüber hypertonischen Schwermetallsalzlösungen große Ähnlichkeiten aufweisen, andererseits aber Moosplasmen bei anderen Stoffen viel resistenter sind als Plasmen von Blütenpflanzen.

Auch durch Pufferung oder NaOH-Zusatz alkalisch gemachte hypertonische Zucker-, Glyzerin- oder KNO<sub>3</sub>-Lösungen töten die Moosplasmen sofort. Selbst kurzes Eintauchen in hypotonische Sodalösungen (z. B. *Madotheca platyphylla* 1 Minute in 0,1 mol) genügt oft, um die Zellen abzutöten.

Bei Plasmolyse mit alkalischen Mischlösungen oder nach Vorbehandlung bei höherem pH sind vielfach Tonoplastenstadien zu beobachten.

Die Moosplasmen zeigen eine spezifische Empfindlichkeit gegen alkalische Reaktion. Die Unplasmolysierbarkeit in Sodalösungen beruht aber nicht auf einem schwach ausgebildeten Plasmalemma. In Schwermetallsalzlösungen und — wie in dieser Arbeit gezeigt wurde — selbst in Kaliumoxalat ist Plasmolyse möglich. Diese Lösungen besitzen aber keinen hohen pH-Wert. Der einer 1,0 molaren Kaliumoxalatlösung beträgt etwa 8,0. Die Resistenz gegen hypertonische Sodalösung kann also nicht als unbedingtes Maß für die Ausbildung des Plasmalemmas gelten.

#### Literatur

- Biebl, R., 1940: Einige zellphysiologische Beobachtungen an Hookeria lucens (L.) Sm. Osterr. bot. Z. 89, 500.
- 1947 a: Die Resistenz gegen Zink, Bor und Mangan als Mittel zur Kennzeichnung verschiedener pflanzlicher Plasmasorten. S. B. Wien, Akad. Wiss., math.-nat. Kl., Abt. I, 155, 145.
- 1947 b: Über die gegensätzliche Wirkung der Spurenelemente Zink und Bor auf die Blattzellen von Mnium rostratum. Österr. bot. Z. 94, 61.
- 1949: Vergleichende chemische Resistenzstudien an pflanzlichen Plasmen. Protoplasma 39, 1.
- 1950 a: Über die Resistenz pflanzlicher Plasmen gegen Vanadium. Protoplasma 39, 251.

- Biebl, R., 1950 b: Zellphysiologische Untersuchungen an Gemüsepflanzen. Biol. gen. 19, 236.
- 1950 c: Zellphysiologische Beobachtungen an panaschierten Abutilon-Pflanzen. Österr. bot. Z. 97, 168.
- 1952: Ecological and non-environmental resistance of the protoplasm of marine algae. Marin. Biol. Ass. Un. Kingd. 31, 307.
- 1953: Resistenz pflanzlicher Plasmen gegen 2, 4-D. Protoplasma 42, 193.
- 1954: Zellwandpermeabilität einiger Moose. Protoplasma 54, 73.
- und W. Rossi-Pillhofer, 1954: Die Änderung der chemischen Resistenz pflanzlicher Plasmen mit dem Entwicklungszustand. Protoplasma 44, 115.
- und W. Url, 1958: UV-Strahlenwirkungen auf Zellen von Allium cepa, besonders deren Chondriosomen und Plastiden. Protoplasma 49, 329.
- Brenner, W., 1917—1918: Studien über Empfindlichkeit und Permeabilität pflanzlicher Protoplasten für Säuren und Basen. Öfvers, Finska Vetensk. Soc. Förhandlingar 60, Nr. 4 (A).
- Cholnoky, B. J., 1952 a: Beobachtungen über die Wirkung der Kalilauge auf das Protoplasma. Protoplasma 41, 57.
- 1952 b: Beobachtungen über die Plasmolyse I. Die protoplasmatische Wirkung von NaCl-, NaOH- und HCl-Gemischen auf Delphinium-Blattzellen. S. B. Österr. Akad. Wiss. Wien, math.-nat. Kl., Abt. I, 161, 359.
- 1953: Beobachtungen über die Plasmolyse II. Zur Protoplasmatik der Staubblatthaarzellen von Tradescantia. Ebenda 162, 521.
- Heilbrunn, L., 1927: Surface precipitation reaction. Protoplasma 4, 246.
- 1930: Action of various salts on the first stage of the surface precipitation reaction in Arbacia- egg. Protoplasma 11, 558.
- Herzog, Th., und K. Höfler, 1944: Kalkmoosgesellschaften um Golling. Hedwigia 82, 1.
- Höfler, K., 1939: Nekroseformen pflanzlicher Zellen. Ber. dtsch. bot. Ges. 56, 451.
- 1943: Über die Austrocknungsfähigkeit des Protoplasmas. Ber. dtsch. bot. Ges. 60, 94.
- 1951: Plasmolyse mit Natriumkarbonat. Zur Frage des Plasmalemmas bei Süßwasseralgen und bei Gewebszellen von Landblütenpflanzen. Protoplasma 40, 426.
- 1953: Zur Frage des Plasmalemmas bei Spirogyra. Protoplasma 42, 334.
- 1954: Über einige Lebermoose des Bayreuther Raumes und ihre plasmatischen Trockengrenzen. Ber. Naturwiss. Ges. Bayreuth 1953/54, 67.
- und H. Schindler, 1951: Vitalfärbung von Algenzellen mit Toluidinblaulösungen gestufter Wasserstoffionenkonzentration. Protoplasma 40, 137.
- und W. Loub, 1952: Algenökologische Exkursion ins Hochmoor auf der Gerlosplatte. S. B. Österr. Akad. Wiss. Wien, math.-nat, Kl., Abt. I, 161, 263.
- und W. Url, 1958: Das Verhalten der Chondriosomen bei Kappenplasmolyse.
   Protoplasma 49, 307.
- Iljin, W. S., 1955: Das Absterben der Pflanzenzellen in reinen und balancierten Salzlösungen. Protoplasma 24, 409.
- Kaho, H., 1956a: Untersuchungen über die antagonistische Wirkung der Monound Disaccharide sowie der mehrwertigen Alkohole bei der Wirkung von Säuren auf das Pflanzenplasma. Protoplasma 47, 164.
- 1956 b: Untersuchungen über die antagonistische Wirkung der Zucker und mehrwertigen Alkohole bei der Wirkung von Alkalien auf das Pflanzenplasma. Protoplasma 47, 242.
- K as y, R., 1951: Untersuchungen über Verschiedenheiten der Gewebeschichten krautiger Blütenpflanzen in Beziehung zu den entwicklungsgeschichtlichen Befunden Hans Winklers an Propfbastarden. S. B. Österr. Akad. Wiss. Wien, math.-nat. Kl., Abt. I, 160, 509.

Lederer, B., 1954: Färbungs-, Fixierungs- und mikrochirurgische Studien an Spirogyra-Tonoplasten. Protoplasma 22, 405.

Lepeschkin, W. W., 1927: Über den Zusammenhang zwischen mechanischen und chemischen Schädigungen des Protoplasmas und die Wirkungsart einiger Schutzstoffe. Protoplasma 2, 239.

 1957: Zell-Nekrobiose und Protoplasma-Tod. Protoplasma-Monographien, Band 12.

Loub, W., 1951: Über die Resistenz verschiedener Algen gegen Vitalfarbstoffe. S. B. Österr. Akad. Wiss. Wien, math.-nat. Kl., Abt. I, 163, 447.

Mothes, K., 1934: Der Tonoplast von Sphaeroplea. Planta 21, 486.

Perner, E. S., und G. Pfefferkorn, 1953: Pflanzliche Chondriosomen im Licht- und Elektronenmikroskop. Flora 140, 98.

Petuely, F., und N. Meixner, 1953: UV-spektroskopische Untersuchungen an Zuckern I. Die Einwirkung von Natriumhydroxyd auf Glucose. Chemische Berichte 86, 1256.

Port, J., 1926: Einfluß der Neutralsalze auf das Durchdringen der OH-Ionen durch das Protoplasma. Biochem. Z. 170, 577.

Pribik, E., 1947: Das Resistenzverhalten verschiedener pflanzlicher Plasmen gegenüber einigen Spurenelementen. Diss. Universität Wien.

Reuter, L., 1955: Protoplasmatische Pflanzenanatomie. Protoplasmatologia XI/2. Schindler, H., 1938: Tötungsart und Absterbebild I. Der Alkalitod der Pflanzenzelle. Protoplasma 30, 186.

 und W. R ü c k e r, 1956: Resistenz und Nekrose von Pflanzenzellen nach Einwirkung des Insektizids Systox. Protoplasma 46, 619.

Steinlesberger, E., 1959: Plasmolysestudien an Laubmoosen I. Erscheinungen des Plasmolyseverzuges. Protoplsma 50, 544.

Troschin, A. S., 1958: Das Problem der Zellpermeabilität. Fischer-Verlag, Jena. Url, W., 1951: Permeabilitätsverteilung in den Zellen des Stengels von *Taraxacum officinale* und anderer krautiger Pflanzen. Protoplasma 40, 475.

 1952 a: Unterschiede der Plasmapermeabilität in den Gewebeschichten krautiger Stengel. Physiol. Plantarum 5, 135.

- 1952 b: Permeabilitätsstudien mit Fettsäureamiden. Protoplasma 41, 287.

 1955: Resistenz von Desmidiaceen gegen Schwermetallsalze. S. B. Österr. Akad. Wiss, Wien, math.-nat. Kl., Abt. I, 164, 207.

 1956: Über Schwermetall-, zumal Kupferresistenz einiger Moose. Protoplasma 46, 768.

 1957: Zur Kenntnis der Todeszonen im konzentrationsgestuften Resistenzversuch. Physiol. Plantarum 10, 518.

- 1959: Resistenz pflanzlicher Plasmen gegen Natriumazid. In Vorb.

und E. Fetzmann, 1959: Wärmeresistenz und chemische Resistenz der Grünalge Gloeococcus bavaricus Skuja. Protoplasma 50, 471.

Weber, F., 1932: Plasmolyse und "surface precipitation reaction". Protoplasma 15, 522.

- 1933: Gallensalz-Wirkung und Plasmolyse-Permeabilität, Protoplasma 17, 102.

- 1934: Plasmalemma-Zerstörung und Tonoplasten-Bildung. Protoplasma 21, 424.

# Feinstruktur der Wimperflamme in den Protonephridien

Von

### Georg Kümmel

Aus dem Zoologischen Institut (Direktor Prof. Dr. W. Ulrich) und der Abteilung für Elektronenmikroskopie der Math.-Nat. Fakultät (Prof. Dr. E. Ruska, Dr. E. Wiesenberger) der Freien Universität Berlin

Mit 7 Textabbildungen

(Eingegangen am 1. Dezember 1958)

Kürzlich habe ich in einer Arbeit (Kümmel 1958) die Feinstruktur der Protonephridien bei Miracidien von Fasciola hepatica L. beschrieben. Darin wurde auch in knapper Form auf die Feinstruktur der Wimperflamme als Aggregat aus Einzelwimpern eingegangen, ebenso auf den Feinbau der Einzelwimper mit ihrem Basalkörper. Doch mußten einige Fragen offen bleiben, die ich inzwischen klären konnte.

Material und Methode sind schon in der obenerwähnten Arbeit behandelt worden.

## Die Anordnung der Wimpern in der Wimperflamme

Die Wimperflammen in den Protonephridien stellen ebenso wie die Cirren und Membranellen der Ciliaten sowie die Kämme der Ctenophoren Wimpergruppen dar, die jedenfalls funktionell eine Einheit bilden. In den Membranellen und Kämmen sind aber die Wimpern nur in einer Ebene eng miteinander verknüpft, im Gegensatz zu den Verhältnissen in Cirren und Wimperflammen. Ich werde also hier die Wimperflammen nur mit den Cirren vergleichen, die schon eingehend elektronenmikroskopisch untersucht worden sind (Roth 1955). Die Reihen der Einzelwimpern zeigen in den Cirren eine streng bilaterale Anordnung. Auch in den Wimperflammen ist eine gewisse Bilateralität in der Zahl der Wimpern, die je eine Reihe aufbauen, zu sehen (Abb. 1). Dafür zwei Zahlenbeispiele aus zwei verschiedenen Wimperflammen:

5 7 8 10 10 11 11 10 11 11 10 9 9 9 6 5 1 (Nach Abb. 1, Die Zählrichtung ist durch den Pfeil gekennzeichnet.

46788889101010111099864



Abb. 1. Protonephridium, quer. Im Bereich der in "Leisten aufgelösten" Membran, die die Wimperflamme umhüllt. Pfeil: s. erstes Zahlenbeispiel. Elektronische Vgr. 7200. Nachvergrößert.



Abb. 2. Protonephridien, längs. Basisregion der Wimperflamme. Pfeil: feine Wurzelfaser mit Periodik von etwa 300 Å. Elektronische Vgr. 7200, Nachvergrößert.

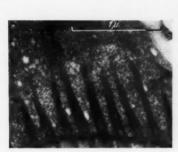


Abb. 5. Abb. 4,

Abb. 3. Protonephridium, längs. Basisregion. Basalkörper und dicke Wurzelfaser mit Periodik von etwa 700 Å. Elektronische Vgr. 7200. Nachvergrößert.

Abb. 4. Protonephridium, quer. Schnitt durch Basalkörper und Wurzelfaser (Pfeil). Elektronische Vgr. 7200. Nachvergrößert.

Protoplasma, Bd. LI/3

Solche Anordnung ist schon auf Grund der engen Packung zu fordern, daher nicht weiter erstaunlich. In den Cirren ist trotz der geringeren Packungsdichte die Anordnung der Einzelwimpern strenger. Allerdings übersteigt die Zahl der Wimpern in der Wimperflamme diejenige im Cirrus um das Vier- bis Fünffache (130—140 gegenüber 20—35). Symmetrieeigenschaften werden aber noch durch eine intimere Struktur deutlich. Die Verbindungslinie der zwei zentralen Fibrillen aller Einzelwimpern scheinen in jedem Querschnitt gleichgerichtet zu sein (Abb. 1). Solche Ausrichtung ist schon von Fawcett und Porter (1954) an Wimperfeldern

Abb. 5. Schema einer Wimper mit Basalkörper und Wurzelfasern. Links ist ein Längsschnitt, rechts Querschnitte in verschiedenen Bereichen dargestellt.

bei Muscheln und Fröschen gefunden und ihre Bedeutung diskutiert worden. Aus rein morphologischen Befunden läßt sich aber über die funktionelle Bedeutung solcher Anordnungen nichts Entscheidendes sagen. Eine Untersuchung über die Schlagrichtung der Wimperflamme könnte ergeben, ob vielleicht Beziehungen zwischen Schlagrichtung und Lage der Zentralfibrillen bestehen.

### Basalkörper und Wurzelfaser

In der am Anfang zitierten Arbeit wurde auch der Basalkörper der Wimpern beschrieben und in einem Schema erläutert. Hier soll dieses Schema noch durch die Beschreibung der Wurzelfasern ergänzt werden. Der Basalkörper setzt sich innerhalb der Zelle in eine dicke Faser fort, die eine deutliche Querperiodik zeigt (Abb. 2, 3) Der Periodenabstand beträgt auf allen ausgemessenen Photographien etwa 700 Å und schwankt wenig. Ähnliche Werte fanden auch Fawcett und Porter (1954), Bradfield (1955) und andere Autoren in den Wurzelfasern von Epithelien verschiedenster Tiergruppen.

Die Faser scheint durch Verschmelzung der Wände des Basalkörperzylinders zu entstehen. Zumindest verschwindet im Querschnitt der Hohlraum (Abb. 4, Pfeil). Dieser dicke Anfangsabschnitt gibt

feinere Äste ab, die manchmal auch eine Periodik zeigen, jedoch mit geringerem Intervall (etwa 300 Å, Abb. 2, s. Pfeil). Man kann also nach diesen Befunden das in Abb. 5 abgebildete Schema entwerfen.

### Die Abgrenzung der Einzelwimper in der Wimperflamme

Kurz nach dem Freiwerden der Einzelwimper von der Mutterzelle berühren sich die Wimpern noch nicht (Abb. 6). Man sieht aber an vielen Stellen feine Brücken zwischen den Wimpern ausgespannt, die nicht von einer Membran umscheidet sind. Die Wimpern selbst besitzen aber deutliche Membranen. Diese Membranen bleiben auch dann noch erhalten.

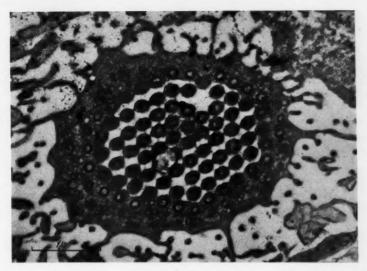


Abb. 6. Protonephridium, quer. Basale Region. Wimpern noch getrennt mit deutlichen Membranen. Zwischen den Wimpern feine Brücken. Elektronische Vgr. 7200.

Nachvergrößert.

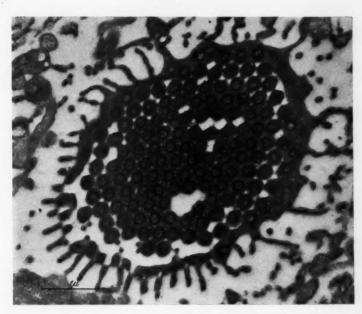


Abb. 7. Protonephridien, quer. Bereich etwas distal von Abb. 4. Wimpern berühren sich vielfach. Elektronische Vgr. 15.000, Nachvergrößert. Pfeil: Membranen der Einzelwimpern besonders deutlich.

wenn sich die Wimpern berühren und schließlich ohne Zwischenraum aneinanderlegen. Die Wimpern scheinen dann durch die enge Packung hexagonal verformt (Abb. 7. Die blasige Struktur im zentralen Bereich der Wimperflamme ist wohl ein Artefakt). Weiter distal sind die Grenzmembranen nur noch schwer zu erkennen, An einzelnen Stellen sind sie aber — zumindest auf den Originalphotos — einwandfrei sichtbar (Abb. 1).

Es scheint demnach so, daß die Einzelwimpern in der Wimperflamme der Protonephridien ebenso wie die Wimpern in den Cirren ihre morphologische Individualität bewahren. In den Cirren ist allerdings die Packung bei weitem nicht so eng wie in der Wimperflamme.

### Zusammenfassung

Die Anordnung der Einzelwimpern in der Wimperflamme der Protonephridien wird beschrieben. Dabei werden Symmetrieeigenschaften aufgezeigt. Der Basalkörper mit Wurzelfasern wird in einem Schema erläutert. Die Einzelwimpern scheinen durch Membranen ihre morphologische Individualität zu bewahren.

#### Literatur

- Bradfield, J. R. G., 1955: In "Fibrous Proteins and their biological significance" (Symposia of the Soc. for Experimental Biology Nr. 9). London. Cambridge University Press 6 + 570 S.
- Fawcett, D. W., and K. R. Porter, 1954: A study of the fine structure of ciliated epithelia. J. Morphol. 94, 221-228.
- Kümmel, G., 1958: Das Terminalorgan der Protonephridien, Feinstruktur und Deutung der Funktion. Z. Naturforsch. 13 b, 677-679.
- Roth, L. E., 1956: Aspects of ciliary fine structure in *Euplotes patella*. J. Biophys. a, Biochem. Cytology 2, Supplement, 235—240.

### Protistenstudien IX

Elektronenmikroskopische Untersuchungen an Amöben unter besonderer Berücksichtigung der Feinstruktur des Cytoplasmas

Von

#### L. Schneider und K. E. Wohlfarth-Bottermann

Aus dem Zentrallaboratorium für angewandte Übermikroskopie und dem Zoologischen Institut der Universität Bonn

Mit 9 Textabbildungen

(Eingegangen am 19. Dezember 1958)

Die Amöbenzelle erscheint schon auf den ersten Blick als ein ideales Untersuchungsobjekt für mannigfaltige cytologische und zellphysiologische Untersuchungen, da bei ihr — wie bei allen anderen Protisten — sämtliche wichtigen Lebensvorgänge in einer Zelle lokalisiert sind. So bietet sie dem Untersucher vor allem in bezug auf Cytoplasmastudien interessante Möglichkeiten, da ihre Fortbewegungsweise ursächlich mit der Plasmabeschaffenheit (Plasmasol = Plasmagel-Umwandlung) in Zusammenhang steht. Amöben sind außerdem verhältnismäßig leicht kultivierbar, können unter verschiedenen physiologischen Bedingungen (Hypertonie — Hypotonie, Quellungs- und Entquellungsstudien) gehalten werden und bereiten auch der elektronenmikroskopischen Präparation keine großen Schwierigkeiten, da sie als Einzelzellen gut fixiert und geschnitten werden können.

Die vorliegende Arbeit soll in erster Linie eine Grundlage für weitere elektronenmikroskopische Untersuchungen schaffen, die sich mit der Plasmasol = Plasmagel-Transformation und ihrer Beeinflussung durch verschiedene Agenzien befassen werden.

#### Material und Technik

1. Amoeba proteus

Untersucht wurde ein Amoeba proteus-Stamm von auffallend dunkler Farbe. Die Amöben, deren Größe etwa 500—700 µ betrug, bewegten sich nicht kriechend vorwärts, sondern mit "Stelzfüßchen", langen kräftigen Pseudopodien. Den Stamm verdanken wir Herrn Dr. F. Kaudewitz, Max-Planck-Institut für Virusforschung, Tübingen. Die Kultur erfolgte in 0,01%iger Knopscher Lösung bei Zimmertemperatur und diffusem Tageslicht. Als Futter dienten Bakterien aus Strohdekokt und Paramecium aurelia.

Die Fixation der Amöben geschah nach der von Wohlfarth-Bottermann (1957) aufgezeigten Methode mit einer  $OsO_4/K_2Cr_2O_7$ -Mischung (Stammlösung A: 1000 ccm 5%  $K_2Cr_2O_7$ + ca. 10—12 ccm 2,5 n KOH (pH 7,2—7,5), Stammlösung B: 3,4%ige NaCl-Lösung, Stammlösung C: 2%ige wäßrige  $OsO_4$ -Lösung, Mischverhältnis: 1 Teil A + 1 Teil B + 2 Teile C).

1. Versuchsreihe: Fixationsgemisch obiger Zusammensetzung, pH des Gemisches 6.8.

2. Versuchsreihe: Fixationsgemisch obiger Zusammensetzung, wobei jedoch die Kaliumbichromatlösung (Stammlösung A) durch variierte Mengen von KOH auf verschiedene pH-Werte eingestellt worden war, so daß die Fixierungslösungen nach Zusatz von 1 Teil Kulturlösung (statt Stammlösung B) die pH-Werte 5.8, 5.03, 5.76, 6.45, 6.61, 6.82, 7.08, 7.25 und 7.62 aufwiesen.

Die Meßgenauigkeit der pH-Bestimmung betrug 0.01 pH.

Nach dem Fixieren wurde das überschüssige Fixationsgemisch durch Tyrode-

lösung (1/2 konzentriert, nach Romeis) während 1 Stunde ausgewaschen.

Die Kontrastierung erfolgte mit 1% iger Phosphorwolframsäure + 0.5% Uranylacetat in 70% igem Alkohol (gleichzeitig erste Entwässerungsstufe). Anschließend wurde weiter in 96% igem Alkohol entwässert, zum Schluß in absolutem Alkohol. Nach einer Übergangsstufe mit abs. Alkohol + monomerem Methacrylat (1:1) folgte die Einbettung in Methacrylat ("Fluka"/Schweiz, Mischungsverhältnis 1 T. Methyl- und 9 T. Butylester + 0.2% Benzoylperoxyd).

#### 2. Amöbe vom Limax-Typ

Dieser Amöbenstamm, deren Individuen etwa kreisrunde Form besitzen (Durchmesser 50—70  $\mu$ ), wurde aus der Natur isoliert und in 0,1% iger Knopscher Lösung unter Zusatz von Milch (Tartar 1950) gezüchtet. Bei normaler Bewegungsaktivität fließt diese Amöbe vorne mit einem breiten, flachen Lappen hyalinen Ektoplasmas vor, während sich das Endoplasma in Form eines Höckers im hinteren Pol der Zelle befindet.

Die Fixation und Kontrastierung wurde wie vorher für Amoeba proteus beschrieben vorgenommen. Die Einbettung erfolgte jedoch nicht in Methacrylate, sondern in das von Kellenberger empfohlene Vestopal W, das eine Entwässerung der Objekte in Acetonstufen voraussetzt.

Die Herstellung der Dünnschnitte geschah auf Ultramikrotomen nach Fernandez-Morán (Leitz/Wetzlar) und Porter-Blum (Sorvall Inc. Conn., USA). Die elektronenoptischen Untersuchungen erfolgten mit einem Siemens-Elektronenmikroskop Typ 100 d bei 80 kV und einer Aperturblende von 30  $\mu$ . Photographiert wurde auf  $6.5 \times 9~{\rm cm}$  Agfa-Agepe-Film.

### Untersuchungsergebnisse

#### 1. Amoeba proteus

Bei Osmiumfixierung erwies sich die Pufferung des Fixierers auf einen pH-Bereich von 6,6—7,2 als optimal für die Strukturerhaltung des Cytoplasmas. Dieser Bereich entspricht gut der Lage des isoelektrischen Punktes des Amöbencytoplasmas von pH 6,8 ± 0,2 nach Wiercinski (Small und Wiercinski 1955). Im stark sauren Bereich des Fixierers (pH 3,8—5,03) sind nur grobe Strukturen und Mitochondrien erhalten. Es fehlt eine geschlossene Cytoplasmastruktur. Mit dem Ansteigen des pH-Wertes zum optimalen Bereich hin wird die Strukturerhaltung zwar allmählich besser, je-

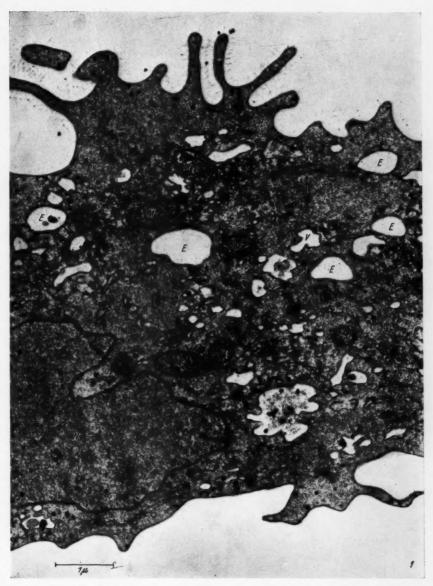


Abb. 1. Übersichtsbild eines Ausschnittes aus einer Amöbenzelle (Limax-Typ). "Granuläres" Ektoplasma ohne plasmatische Einschlüsse, Endoplasma mit Mitochondrien (M), Vakuolen (V) und Nucleus (N); Kernmembran mit Poren ( $\downarrow$ ); angeschnittene Zelleinstülpungen (E) mit typischer Plasmalemmastruktur; bei ( $\updownarrow$ ) fibrilläre Elemente. Präparationstechnik s. Text, Fixationsgemisch pH 7,0. E.O. 6500: 1. E. V. 18500: 1.

doch kann bei einem pH-Wert unter pH 6,6 noch nicht von einer Feinstruktur des Cytoplasmas gesprochen werden. Es finden sich nur grobe netzförmige Strukturen. Im optimalen Bereich pH (6,6—7,2) scheint im Vergleich zu bekannten Cytoplasmastrukturen von Säugerzellen die bestmögliche Strukturerhaltung erreicht zu sein (Abb. 1). Dies deckt sich auch mit Untersuchungen von Wohlfarth-Bottermann (1958) an Paramecium, nicht jedoch mit den Anschauungen von Lehmann und Mitarbeitern (1947—1956), die eine sehr grobe Plasmastruktur (Retikulärstruktur mit eingelagerten Biosomen) bei Amöben beschreiben und für saure Fixierer plädieren.

Die von uns untersuchten Amöben hatten sich bei der Fixierung nicht abgekugelt. Es zeigte sich im elektronenmikroskopischen Bild eine große Zahl von kleinen Zellausläufern und Fältelungen der Zellmembran, woraus auch geschlossen werden kann, daß die Fixation keine groben Veränderun-

gen hervorgerufen hat (Abb. 3, 8 und 9).

Das Plasmalemma zeigt im Ultradünnschnitt Membranstruktur. Im optimalen Schnitt ist einwandfrei eine innere Doppelmembran zu erkennen, an deren Außenseite eine etwas diffusere und (im Vergleich zu den Lamellen der Doppelmembran) kontrastärmere dritte Schicht sichtbar ist (Abb. 4). An dieser äußeren Schicht inserieren die auf allen Bildern, auf denen die Zellmembran dargestellt ist (Abb. 5, 8 und 9), sichtbaren zahlreichen fadenartigen Härchen (Filamente). Ihre Länge beträgt bei Amoeba proteus bis zu 2500 Å und ihre Dicke etwa 150 Å.

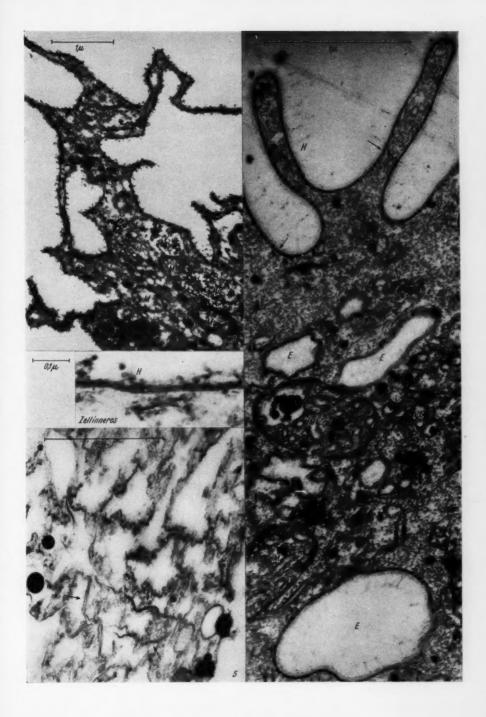
Der Nucleus hat eine Größe von 20—50  $\mu$ . Die Kernmembran ist eine Doppelmembran, deren innere Lamelle eine regelmäßige, fächerförmige Fältelung aufweist, die in der Aufsicht eine "Bienenwabenstruktur" darstellt und in der Literatur als "große Poren" beschrieben ist. Die Doppelmembran besitzt zwischen den einzelnen Fältelungen (sozusagen im Boden der großen Poren) kleine Poren mit einem Durchmesser von 80—100 Å. Das

Abb. 2. Stärker vergrößerter Ausschnitt aus dem Übersichtsbild (*Limax*-Typ). Plasmalemma, bestehend aus Doppelmembran (\*) und diffuser kontrastarmer Schicht mit zarten "Härchen" (*H*); Ektoplasma (bis etwa in Bildmitte reichend) nur aus "granulären" Elementen bestehend. Endoplasma mit vesikulären bzw. schlauchförmigen Elementen (*VE*), Doppelmembranen in diesem Ausschnitt nicht vorhandenen; Zelleinstülpungen (*E*), Mitochondrien (*M*). E. O. 15.200: 1. E. V. 47.000: 1.

Abb. 3. Submikroskopische Zellausläufer von *Amoeba proteus*; keine deutliche Differenzierung im Ekto- und Endoplasma. Mitochondrien (*M*) und Vakuolen (*V*) auch in den Zellausläufern. Fixationsgemisch pH 6,82. E. O. 13.800 : 1. E. V. 20.000 : 1.

Abb. 4. Stark vergrößerter Ausschnitt aus dem Plasmalemma, das aus Doppelmembranen und darübergelagerter diffuser Schicht mit Härchen (H) besteht (Amoeba proteus). Fixationsgemisch pH 6,82. E. O. 13.800 : 1. E. V. 115.000 : 1.

Abb. 5. Gut sichtbare Doppelmembranen (†) des Cytoplasmas infolge saurer Fixation (Amoeba proteus), Fixationsgemisch pH 6,45. E. O. 15.800 : 1. E. V. 58.000 : 1.



Kerninnere ist von globulären Elementen, die untereinander in lockerem Zusammenhang stehen, erfüllt. Ihre Größe beträgt 100—200 Å. Außerdem liegen darin, besonders häufig in den Randbezirken, kompakte Ansammlungen globulärer Elemente, die keine deutliche Membran besitzen und als Nucleolen gedeutet werden. Sie haben eine abgerundete Gestalt und sind etwa 500—2000 Å groß, wobei die kleineren vielleicht Anschnitte von großen sein könnten.

Das Cytoplasma scheint aus mindestens drei Komponenten zu bestehen. Es sind dies

- 1. Doppelmembranen,
- 2. vesikuläre bzw. schlauchförmige Elemente,
- 3. granuläre bzw. fadenförmige Elemente.

Bei den Doppelmembranen beranen handelt es sich um paarig angeordnete Lamellen (Abb. 5, 6, 7). Ihre Länge beträgt bis zu 1  $\mu$ . Sie lassen sich in Serienschnitten in ihrer Tiefenausdehnung verfolgen, was gegen eine zufällige parallele Zusammenlagerung einfacher fadenförmiger Elemente spricht. Ein strukturgebundenes Vorkommen der Doppelmembranen in der Zelle kann nicht beobachtet werden. Es scheint Stellen zu geben, an denen sie häufiger als normal vorkommen, und Zonen, in denen sie nicht vorhanden sind. So fehlen sie vor allem manchmal in Randgebieten, meistens in kleinen Ausläufern und Plasmabrücken (-strängen). Diese Zonen werden dann in der Regel nur von der "granulären" Komponente (Ektoplasma) erfüllt (s. a. Abb. 3, 6 und 8). Ob die in Schichtpaketen angeordneten paarigen Membranen (Abb. 6 und 7), die bislang allgemein als "Golgi-Strukturen" gedeutet werden, ebenfalls zu den beschriebenen Doppelmembranen gehören, kann hier nicht entschieden werden. Die in Schichtpaketen angeordneten Doppelmembranen bestehen aus 5—10 Membranpaaren.

Die "vesikulären" Elemente haben variable Größe und Gestalt. Auch sie lassen sich in ihrer Tiefenausdehnung in Serienschnitten verfolgen, haben also keine bläschenförmige Gestalt, sondern stellen polymorphe Schläuche dar. Daraus erklärt sich auch ihre verschiedene Gestalt im Schnittpräparat, die je nach Anschnitt rund, oval oder langgestreckt ausfällt. Ihr

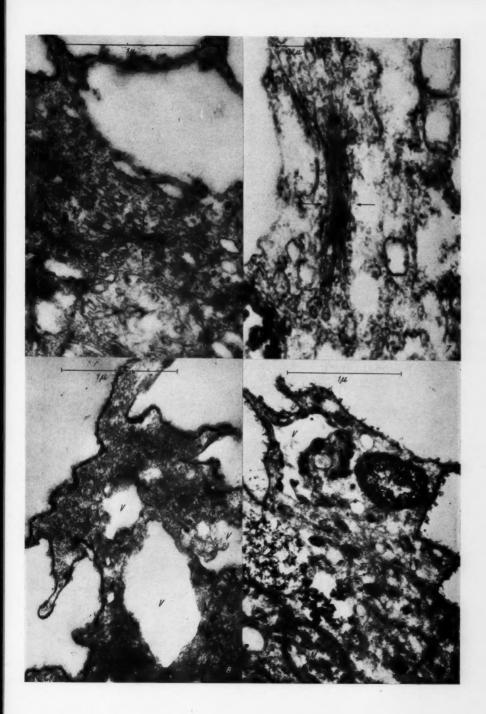
Abb. 6. Randzone einer Amöbenzelle (Amoeba proteus) mit paarig angeordneten Doppelmembranen ("Schichtpaket"), die als Golgi-Apparat gedeutet werden (\*). Fixationsgemisch pH 6,61. E. O. 13.800 : 1. E. V. 43.500 : 1.

Abb. 7. Stark vergrößerte Golgi-Struktur ("Schichtpaket" paarig angeordneter Doppellamellen [→≺]). Fixationsgemisch pH 6.82. E. O. 13.800 : 1. E. V. 60.000 : 1.

Abb. 8. Randzone einer Amöbenzelle (Amoeba proteus) mit hauptsächlich granulärer bzw. fädiger Komponente des Cytoplasmas (Ektoplasma) und großen Vakuolen (V). Fixationsgemisch pH 6.61. E. O. 13.800: 1. E. V. 37.000: 1.

Abb. 9. Randzone einer Amöbenzelle ohne deutliches Ektoplasma; alle Komponenten des Cytoplasmas vorhanden, außerdem fibrilläre Strukturen (↑), Mitochondrien (M) und Vakuolen (V) sichtbar. Fixationsgemisch pH 6,82, E. O. 13.800: 1.

E. V. 56.500: 1.



geringster Durchmesser beträgt etwa 300 Å. Auch bei ihnen läßt sich kein

strukturgebundenes Vorkommen feststellen.

Die "granulären" Elemente mit einer Größenordnung von 100—200 Å bilden im allgemeinen zusammen mit den oben beschriebenen Elementen den Grundaufbau des Cytoplasmas. Sie sind aber im Gegensatz zu den Doppelmembranen und schlauchförmigen Strukturen immer vorhanden und können auch allein mehr oder weniger große Bezirke des Cytoplasmas bilden. Wie bereits oben beschrieben, handelt es sich dabei hauptsächlich um Randzonen (Ektoplasma), kleine Ausläufer und Plasmastränge, wie es auch aus den Abb. 3, 6, 8 und 9 hervorgeht.

Als cytoplasmatische Einschlüsse sind zunächst die Mitochondrien zu nennen. Ihre Größe schwankt, sie beträgt durchschnittlich  $1-2\mu$ . In den Randgebieten scheinen sie häufiger vorzukommen als im Zellinnern. Oftmals findet man sie auch in kleineren Ausläufern, deren Gestalt sie dann aufbauchen. Sie enthalten die bei Protisten besonders häufig gefundenen

Tubuli mitochondriales.

Nahrungsvakuolen und andere Vakuolen wechseln in Gestalt, Größe und Anzahl mit dem Ernährungszustand und den Kulturbedingungen der Amöben.

### 2. Amöbe vom Limax-Typ

Ebenso wie bei Amoeba proteus fanden wir bei der Amöbe vom Limax-Typ eine große Anzahl von Zellausläufern (Abb. 1 und 2), die lichtmikroskopisch nicht erkannt werden können. Sie reichen zwar in bezug auf ihre Länge in den Bereich des Auflösungsvermögens der Lichtmikroskopie, können aber zumeist wegen ihrer geringen Breite auch phasenkontrastmikroskopisch nicht gesehen werden.

Die Zellmembran besteht aus einer kontrastreichen und scharf konturierten Doppelmembran, auf die peripher eine diffuse, kontrastarme Schicht aufgelagert ist (Abb. 2). Auf dieser äußeren Schicht der Zellmembran inserieren wie bei Amoeba proteus zahlreiche zarte Härchen, die senkrecht

zur Zellmembran angeordnet sind.

Im Gegensatz zu der komplizierten Struktur der Kernmem bran von Amoeba proteus umgibt bei der untersuchten Amöbe vom Limax-Typ eine einfache Doppelmembran den Kern (Abb. 1). Diese besitzt zahlreiche Poren und kann daher eindeutig als "Siebstruktur" bezeichnet werden.

Das Cytoplasma entspricht in bezug auf seine Strukturelemente dem Cytoplasma von Amoeba proteus. Auffällig ist die zum Teil außerordentlich scharfe Sonderung von Cytoplasmabezirken, die ausschließlich aus granulären bzw. fadenförmigen Strukturen zusammengesetzt sind, und Cytoplasmabezirken, in denen sich vorwiegend die vesikulären und schlauchförmigen Komponenten des Cytoplasmas finden. Letzterer Strukturaspekt charakterisiert das Endoplasma, während das Ektoplasma, das bei dieser Amöbe lichtmikroskopisch besonders gut vom Endoplasma unterschieden werden kann, durch seinen Aufbau ausschließlich aus granulären bzw. fädigen Strukturen gekennzeichnet ist (vgl. Abb. 1 und 2).

Mit den vesikulären und schlauchförmigen Strukturen des Endoplasmas

dürfen zumeist größere Anschnitte von Einstülpungen der Zellmembran nicht verwechselt werden, die man häufig sowohl im Ektoplasma als auch im Endoplasma findet. Sie sind leicht an der typischen Feinstruktur der Zellmembran zu erkennen (vgl. Abb. 1 und 2).

Die Mitochondrien (Abb. 1 und 2) besitzen im Innern als charakteristische Strukturelemente Tubuli mitochondriales. Man findet die Mitochondrien ausschließlich im Endoplasma, wie aus lichtmikroskopischen Untersuchungen bekannt ist. Sowohl im Ektoplasma als auch im Endoplasma, aber auch in Mitochondrien und im Kern unregelmäßig verteilt finden wir zumeist kreisrunde, sehr elektronenkontrastreiche Partikel mit einem Durchmesser von 250—1000 Å (Abb. 1 und 2), über deren Natur noch keine Aussage gemacht werden kann.

### Diskussion der Ergebnisse

Wie oben beschrieben, haben wir das Plasmalemma aus einer Doppelmembran mit einer aufgelagerten dritten Schicht bestehend gefunden. Die äußere dritte Schicht ist etwas diffuser als die Doppelmembran. An ihr inserieren auch die nach außen gerichteten Filamente. Bairati und Lehmann (1953), Lehmann (1956), Lehmann, Manni und Bairati (1956), und Lehmann, Manni und Geiger (1956) beschreiben das Plasmalemma auf Grund von (zentrifugierten) Suspensions-, Fragmentations- und Dünnschnittpräparaten als (mindestens) zweischichtig. Davon soll die äußere Schicht eine "feingranulierte bis schleimige mukoproteidreiche Schicht" (Lehmann, Manni und Geiger 1956), die innere scharf abgegrenzte aber eine "reichlich Mikrosomen und fibrilläre Elemente von ähnlicher Größe wie die Bauelemente des Plasmaretikulums" (Lehmann, Manni und Geiger 1956) enthaltende Schicht darstellen, Diese von Lehmann und Mitarbeitern beschriebene Zweischichtigkeit deckt sich zunächst mit unseren oben ausgeführten Befunden. Die äußere Schicht (und deren Filamente) könnte tatsächlich eine mukroproteidreiche Substanz sein. Lehmann, Manni und Geiger (1956) vertreten dabei die Auffassung, daß diese Schicht die Permeabilität und das Haftvermögen der Zelle bewirke. Das Zweite ist durchaus annehmbar. Dagegen können wir bei den Befunden dieser Autoren über die innere Schicht keine Übereinstimmung mit unseren Ergebnissen erkennen. Die elektronenmikroskopischen Aufnahmen von Dünnschnitten der genannten Autoren zeigen, daß das Cytoplasma (saure Fixation!) nach heutiger allgemeiner Auffassung nicht gut in seiner Struktur erhalten ist.

Über den Kern und seine Membran soll hier nur wenig gesagt werden. Die "Bienenwabenstruktur" der Kernmembran bei Amoeba proteus und ihre Zweischichtigkeit wurde bereits von Bairati und Lehmann (1952) beschrieben. Pappas (1956 b) und Greider, Kostir und Frajola (1956) konnten dann an Dünnschnitten nachweisen, daß diese Struktur von der inneren Lamelle gebildet wird, sich also zum Kernlumen hin erstreckt. Außer diesen "großen Poren" konnten die Autoren aber auch sehr kleine Poren in der Doppelmembran nachweisen. Diese Poren, die der Per-

meabilität dienen dürften, wurden auch schon bei anderen Kernen, z. B. Amphibienkernen (Callan und Tomlin 1950) und Säugerkernen (Watson 1954), beschrieben. Die Annahme, daß die großen Poren (Wabenstruktur) für die Festigkeit der relativ großen Amöbenkerne von Bedeutung seien (Lehmann und Bairati 1952), ist einleuchtend. Die lockere globuläre Struktur im Kerninneren, zusammen mit den runden Anhäufungen globulärer Elemente, findet sich auch in den Bildern von Pappas und bei Greider und Mitarbeitern. Daß es sich bei den Anhäufungen wahrscheinlich um Anschnitte von Nukleolen handelt, wurde oben schon erwähnt. Pappas (1956a) beschreibt außerdem im Kerninneren "schneckenförmige (helical)" Strukturen, die vergleichbar sein könnten mit den von Strugger (1956) und Weißenfels (1957) beschriebenen "schraubenförmigen" Elementen im Cytoplasma von Pflanze und Tier.

Das Cytoplas ma entspricht in seinem Grundaufbau aus den beschriebenen drei Komponenten dem Säuger- und weitgehend wohl auch dem Pflanzencytoplasma. Dies konnte Wohlfarth-Bottermann (1958) auch für Paramecium nachweisen. Lehmann und Mitarbeiter (1947—1956) stellen sich das Cytoplasma der Amöbe auf Grund ihrer Befunde als "schwammartiges dreidimensionales Netzwerk" (Lehmann 1956) vor. Dieses bezeichnen sie auch, in Anlehnung an Porter (1953), als endoplasmatisches Retikulum. Dazu ist zunächst zu sagen, daß eine Identität zwischen dem von Lehmann einerseits und Porter andererseits (später hauptsächlich auch von Palade 1955a, bund 1956) beschriebenen "end oplas matischen Retikulum" nicht besteht. Sowohl die Größe der Bauelemente als auch die Bauelemente selbst sind bei den genannten Retikula sehr verschieden.

Das von Porter (1953) und Palade (1954—1956) beschriebene endoplasmatische Retikulum kann, abgesehen von der Größenordnung, schon deswegen nicht mit dem von Lehmann und Mitarbeiter publizierten "Plasmaretikulum" identisch sein, weil es nicht fibrillärer Struktur ist und auch keine "Mikrosomen"einlagerungen hat. Es hat als Bausteine die dünnen, schlauchförmigen Membranen mit einem Durchmesser der Schläuche von 500—5000 Å, deren Innenraum bei der angewandten Präparationsmethode im elektronenoptischen Bild leer erscheint. Außerdem werden von Palade noch die Doppelmembranen als Bauelemente einbezogen, Von Lehmann und Mitarbeitern werden aber vesikuläre Elemente und Doppelmembranen gar nicht beschrieben.

Die schlauchförmigen Elemente des endoplasmatischen Retikulums bilden ein zusammenhängendes, verzweigtes röhrenartiges System, das die ganze Zelle durchzieht. Da diese Strukturen aber im Dünnschnitt nicht gleichmäßig über die Zelle verteilt sind, scheint das Retikulum nicht nach einem bestimmten starren Schema aufgebaut zu sein. Wahrscheinlich ist es physiologischen Schwankungen innerhalb der Zelle unterworfen.

Bretschneider (1952) nimmt eine netzförmige Feinstruktur des Cytoplasmas an (Leptonentheorie). Die von ihm beschriebenen Fasern (Leptonen) haben eine Größe von 80—200 Å. Sie können also nicht mit den Fasersträngen des "Plasmaretikulums" (Lehmann) übereinstimmen. Nicht diskutiert werden soll die von Strugger (1956) und Weißenfels (1957) vertretene Deutung der granulären Elemente als Anschnitte schraubenförmiger Strukturen (Cytonemata). Ebenfalls nicht die Struktur der Mitochondrien, da über diese bereits zahlreiche gute Untersuchungen vorliegen.

Die vorliegende Untersuchung wurde durch eine Beihilfe der Deutschen Forschungsgemeinschaft ermöglicht.

### Zusammenfassung

Amoeba proteus und eine Amöbe vom Limax-Typ wurden an Hand von Ultradünnschnitten einer elektronenmikroskopischen Untersuchung unterzogen. Das Plasmalemma wurde als zweilamellige Membran, die eine deutliche Abgrenzung zum Cytoplasma aufweist, beschrieben. Peripher ist eine diffusere Schicht aufgelagert, in der feine Härchen inserieren. Die bereits bekannten Strukturen der Kernmembran von Amoeba proteus wurden bestätigt. Die untersuchte Amöbe vom Limax-Typ dagegen besitzt eine Kernmembran mit einer einfachen Siebstruktur. Das Cytoplasma der Amöbe zeigt den von Säuger- und Pflanzenzellen bekannten Aufbau aus Doppelmembranen, vesikulären bzw. schlauchförmigen Elementen und einer scheinbar granulären Komponente, Ektoplasma und Endoplasma können bei der angewandten Präparationsmethode elektronenmikroskopisch gut voneinander unterschieden werden. Die Untersuchungsergebnisse werden mit Befunden und Theorien anderer Autoren verglichen.

Adresse der Verfasser:

Dr. Lothar Schneider, Dozent Dr. Karl-Ernst Wohlfarth-Bottermann, Zentrallaboratorium für angewandte Übermikroskopie der Universität Bonn, Poppelsdorfer Schloß.

#### Literatur

- Bairati, A., e F. E. Lehmann, 1951a: Diversi constituenti della Amoeba proteus (Plasmalemma, ialoplasma, vacuoli) esaminati al microscopio elettronico. Pubbl. Staz. Zool. Napoli 23, 193.
- 1951 b: Über die Feinstruktur des Hyaloplasmas von Amoeba proteus. Rev. Suisse Zool. 54, 445.
- 1952: Über die sublichtmikroskopische Struktur der Kernmembran bei Amoeba proteus. Experientia 7, 60.
- 1953: Structural and chemical properties of the plasmalemma of Amoeba proteus. Exp. Cell Res. 5, 220.
- 1954: Partial disintegration of cytoplasmic structures of Amoeba proteus after fixation with osmium tetroxide. Experientia 10, 173.
- Bretschneider, L. H., 1951: Die elektronenoptische Feinstruktur von organischen Kolloiden und dem Grundcytoplasma. Proc. K. Nederland, Akad. Wetenschapp, Amsterdam 54, 89.
- Callan, H. G., and Tomlin, 1950: Experimental studies on amphibian oocyte nuclei. I. Investigation of the structure of the nuclear membrane by means of the electron microscope. Proc. Roy. Soc. London 137, 367.
- Cohen, A. I., 1957: Electron microscope observations of Amoeba proteus in growth and inanition. J. Biophys. a. Biochem. Cytol. 3, 859.

- Gall, J. G., 1954: Observations on the nuclear membrane with the electron microscope. Exp. Cell Res. 7, 197.
- Gersch, M., H. Franke und R. Deuse, 1958: Lichtoptische und elektronenmikroskopische Untersuchungen über den Einfluß verschiedener extracellulärer Faktoren (anorganische Salze, Germanin [Bayer 205], Vitamin K) auf den Zustand des Protoplasmas von Amoeba proteus, Protoplasma 49, 18.
- Greider, M. H., W. J. Kostir, and W. J. Frajola, 1956: Electron microscopy of the nuclear membrane of Amoeba proteus. J. Biophys. a. Biochem. Cytol., Suppl. 2, 445.
- - 1958: Electron microscopy of Amoeba proteus. J. Protozool. 5, 139.
- Lehmann, F. E., 1947: Über die plasmatische Organisation tierischer Eizellen und die Rolle vitaler Strukturelemente der Biosomen. Rev. Suisse Zool. 54, 246.
- 1950: Globuläre Partikel als submikroskopische Bauelemente des tierischen Cytoplasmas. Experientia 6, 582.
- 1952: Mikroskopische und submikroskopische Bauelemente der Zelle. Mikroskopische und chemische Organisation der Zelle. Berlin.
- 1955: Die submikroskopische Organisation der Zelle. Verh. Ges. Dtsch. Naturforsch. u. Ärzte, 98. Versammlg., Freiburg i. Br., S. 48—54; Klin. Wchschr. 55, 294.
- 1956: Der Feinbau von Kern und Cytoplasma in seiner Beziehung zu generellen Zellfunktionen. Ergebn. med. Grundlagenforsch., S. 110—137. Georg Thieme Verlag, Stuttgart.
- E. Manni und A. Bairati, 1956: Der Feinbau von Plasmalemma und kontraktiler Vakuole bei Amoeba proteus in Schnitt- und Fragmentpräparaten. Rev. Suisse Zool. 65, 246.
- und W. Geiger, 1956: Der Schichtenbau des Plasmalemmas von Amoeba proteus im elektronenmikroskopischen Schnittbild, Naturwiss, 43, 91.
- Palade, G. E., 1955 a: A small particulate component of the cytoplasm.

  I. Biophys. a. Biochem. Cytol. 1, 59.
- 1955 b: Studies on the endoplasmic reticulum. II. Simple dispositions in cells in situ. J. Biophys. a. Biochem. Cytol 1, 567.
- 1956: The endoplasmic reticulum. J. Biophys. a. Biochem. Cytol., Suppl. 2, 85.
- Pappas, G. E., 1954: Structural and cytochemical studies of the cytoplasm in the family Amoebidae. Ohio J. Science 54, 195.
- 1956 a: Helical structures in the nucleus of Amoeba proteus. J. Biophys. a. Biochem. Cytol. 2, 221.
- 1956 b: The fine structure of the nuclear envelope of Amoeba proteus.
   J. Biophys. a. Biochem. Cytol., Suppl. 2, 431.
- Porter, K. R., 1955: The fine structure of a submicroscopic basophilic component of Cytoplasm. J. Exp. Med. 97, 727.
- Sedar, A. W., and M. A. Rudzinska, 1956: Mitochondria of Protozoa. J. Biophys. a. Biochem. Cytol., Suppl. 2, 331.
- Small, J., and F. J. Wiercinski, 1955: The pH of plant cells. The pH of animal cells. Protoplasmatologia, Bd. II, B. 2c, Wien.
- Strugger, S., 1956: Schraubig gewundene Fäden als sublichtmikroskopische Bauelemente des Cytoplasmas. Naturwiss. 45, 451.
- Tartar, V., 1950: Methods for the study and cultivation of Protozoa. Studies Horning Trevor Kincaid (Univ. Wash. Press, Seattle, 103).
- Weißenfels, N., 1957: Elektronenoptischer Nachweis von Schraubenstrukturen im Grundcytoplasma tierischer Zellen, Naturw. 44, 241.

- Wohlfarth-Bottermann, K. E., 1954: Cytologische Studien I. Zur sublichtmikroskopischen Struktur des Cytoplasma und zum Nachweis seiner "Partikelpopulationen". Protoplasma 45, 347.
- 1957: Die Kontrastierung tierischer Zellen und Gewebe im Rahmen ihrer elektronenmikroskopischen Untersuchung an ultradünnen Schnitten. Naturwiss.
   44, 287.
- 1958: Cytologische Studien II. Die Feinstruktur des Cytoplasmas von Paramecium. Protoplasma (Wien) 49, 231.

# Über die Ermittlung der kinetischen Energie von Chromosomen in der Anaphase

Von

### Hans H. Pfeiffer

Aus dem Laboratorium für Polarisations-Mikroskopie, Bremen I

Mit 2 Textabbildungen

(Eingegangen am 30. Januar 1959)

Über diesen Gegenstand liegen m. W. nur Äußerungen von Friedrich Freksa [12] vor, welche unter noch zu erwähnenden Annahmen durch Betrachten der zu erwartenden Dipolmomente zu Resultaten gelangen, die mit beobachteten Bewegungsgeschwindigkeiten im ganzen zu vereinen sind [23; 37, Seite 53]. Wegen immerhin nicht zu übersehender Unsicherheiten soll nun noch ein anderer Weg eingeschlagen werden. Die kinetische Energie der Chromosomen ist, wenn allein mechanisch-energetische Prinzipien angewandt werden, entweder als das halbe Produkt der Masse m eines Festkörpers und des Quadrats seiner Bewegungsgeschwindigkeit p, summiert über sämtliche Punkte des Systems:

$$T = \frac{1}{2} \sum m v^2 \tag{1}$$

oder statt durch diese endliche Summe durch das Integral

$$T = \frac{1}{2} \int_{0}^{\infty} \rho \left( \frac{\partial v}{\partial t} \right)^{2} dx \tag{2}$$

mit dem Krümmungsradius  $\varrho$  und der Zeit t zu definieren [41]. Zur Bestimmung der kinetischen Energie T benötigen wir also 1. experimentelle Daten der Geschwindigkeit der Chromosomen in Mitosen in vitro, 2. bestimmte Zahlenwerte der Masse der Chromosomen.

### 1. Methodische Vorbemerkungen

Das Material für die Mitosen liefern von Mai bis September Haarzellen von Filamenten junger Blütenknospen von Tradescantia virginica, welche phasenmikroskopisch im hängenden Tropfen in Liquidum paraffinum beobachtet werden. Im Sommer sind gelegentlich auch die jungen

Federnarben aus Blütchen von Lolium perenne in gleicher Weise herangezogen worden. Häufiger und zumal zu anderen Monaten sind teils Kulturen in vitro von Bindegewebe der Kiemenblättchen von Larven von Triturus-Arten, teils rote Blutzellen von Triton-Arten benutzt worden, welche in Ringer mit Zusatz von 80% Hühnerbouillon und Dextrose und meist auch unter Hinzufügung von Extrakten aus Embryonalgeweben untersucht worden sind.

Die Messung der Chromosomen bewegung ist fast allein an Anaphasen ausgeführt worden. Es werden dazu die Ortsveränderungen jeweils eines bestimmten Chromosoms beobachtet und die zugehörige Zeitdifferenz der Dauerbeobachtung mit Stoppuhr ermittelt. Im allgemeinen sind die durchschnittlichen Werte aus möglichst der gesamten Anaphase bestimmt worden.

Bestimmungen der Masse sind nicht durch Messen der Röntgenstrahl-

absorption [10; 11], sondern gewöhnlich schlierenmikroskopisch [19; 20; 21; 22] ausgeführt worden, indem die Ablenkung der Lichtstrahlen an der Grenze zweier Medien differenter Refraktion (des Chromosoms und des Karyoplasmas) von der ursprünglichen Richtung als Maß der Phasenverzögerung genommen worden ist [42]. Nur zur Kontrolle ist vereinzelt die weit empfindlichere Methode der interferometrischen Bestimmung [29] ausgeführt worden, bei welcher die Refraktionsdifferenz durch

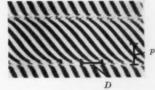


Abb. 1. Schema zu den schlierenmikroskopischen Messungen an zylindrischen Objekten,

die Phasenverzögerung mittels der Wellenlänge des Lichtes als Maßeinheit gemessen wird [3; 9; 29].

Zur schlierenmikroskopischen Massenbestimmung wird ein optisches Absorptionsgitter von etwa 70 Linien/mm zwischen die hintere Fokalebene des Objekts und das Okular gebracht und die Irisblende unterhalb des Kondensors eng zugezogen. Wenn dann das in der Refraktion unterschiedliche Objekt (das Chromosom) mikroskopiert wird, erfährt das Muster der vorher exakt parallel verlaufenden dunklen Linien des Gesichtsfeldes eine deutliche Abweichung (Abb. 1). Nach geringen mathematischen Vereinfachungen und Anwendung einer Relation von Adair und Robinson [1] läßt sich dann nach Meyer-Arendt [19; 20; 21; 22] die Masse C (in g/100 ml) ohne Kenntnis des Volumen und der Dicke des gemessenen Objekts aus dem Brechungskoeffizienten des Einschlußmediums  $n_M$ , der Ortsverschiebung der dunklen Parallelen D, der Entfernung ihres verlagerten Anteils p vom geometrischen Mittelpunkt des Objekts (also dem Radius des angenähert kreisförmigen Objekts) 1 und dem spezifischen Inkrement a der Refraktion durch die Gleichung (3):

$$C \approx n_M \cdot (D/p) \cdot (1/\alpha)$$
 (3)

errechnen.

<sup>&</sup>lt;sup>1</sup> Setzt man den Längenabstand zwischen Präparat und Gitter bzw. seiner Schattenprojektion = S, so ist p auch definiert als p = S. sin  $\rho_C$ , wenn  $\rho_C$  der Winkelabstand des Schattenbildes der Gitterlinie von der optischen Achse ist.

### 2. Ergebnisse I - Geschwindigkeit der Chromosomen

Eigene Befunde über die Geschwindigkeit der Anaphase-Chromosomen bewegen sich innerhalb der Größenordnung der Werte aus der Literatur (Tab. 1). Je nach dem Objekt, nach der Versuchstemperatur und sicherlich

Tab. 1. Ubersicht von Chromosomengeschwindigkeiten ( $\mu$ /min) von verschiedenen Objekten.

Objekt	Temp.	Mittl. Ge- schwindigk. (µ/min)	Max. Ge- schwindigk. (μ/min)	Autoren		
,	10	0,24-0,30	0,260,35	Barber 1939		
	16	0,29-0,36	0,33-0,40	unveröffentlicht		
Filamenthaare von Tradescan-	20	0,50-0,82	0,99-1,35	Barber 1939		
tia pirginica	20	0,46-0,80	0,96-1,29	unveröffentlicht		
	24	0,54-0,91	0,98-1,32	unveröffentlicht		
	35	0,730,75	1,16—1,23	Barber 1939		
Narbenzellen, Lolium perenne	20	0,38-0,79	0,65-0,94	unveröffentlicht		
Micrasterias rotata u. angulosa	_	2,0	-	Waris 1950		
Micrasterias radiata	-	4,6	-	Waris 1950		
Stenobothrus, Spermatocyten-	20	0,130,15	0,20-0,28	Barber 1939		
Meiose I	20	0,14	0,24	Bělař 1929		
** W · W	20	< 0,21	0,33-0,53	Barber 1939		
Idem, Meiose II	20	0,21	0,43	Bělař 1929		
D . DI . II / 7 .4	18	0,32-0,41	0,36-0,63	unveröffentlicht		
Rote Blutzellen, Triton vulgare	20	0,39-0,56	0,48-0,89	unveröffentlicht		
Hühnchen-Fibroblasten	39	2,6	6,5	Barber 1939		
Fibroblasten in vitro,				Hughes		
Rana spec	-	_	2,0	a. Swann 1948		
	( 21	0,28	_	Bucciante 1927		
Fibroplasten von	39	2,60	_	Bucciante 1927		
Gallus domesticus	41	3,68		Bucciante 1927		
	45	3,25	-	Bucciante 1927		
	16	0,25-0,27	0,28-0,39	unveröffentlicht		
Bindegewebe in vitro,	18	0,27-0,28	0,29-0,41	unveröffentlicht		
Triturus cristatus	21	0,39-0,42	0,64-0,76	unveröffentlicht		
	24	0,48-0,62	0,84-1,24	unveröffentlicht		

auch nach dem Viskositätsgrade ihres karyoplasmatischen Milieus beträgt die mittlere Geschwindigkeit der wandernden Chromosomen 0.03 bis 0.0136  $\mu/\text{sec}^2$ . Damit liegt sie nicht sehr weit entfernt von der Ge-

<sup>&</sup>lt;sup>2</sup> Vor allem in Bindegewebekulturen (Abb. 2), aber auch bei anderen Objekten läßt die Geschwindigkeit im Laufe der Anaphase nach (vgl. auch [24; 32; 35]), doch ist bei den hier diskutierten Angaben nur stets die "mittlere" Wanderungsgeschwindigkeit ermittelt worden.

schwindigkeit anderer Zellorganelle, wie der Chloroplasten (s. dagegen: [34]); vgl. Tab. 2. Man übersieht zu leicht, daß in gefilmter Darstellung der Anaphasenwanderung ein überhöhter Eindruck der Geschwindigkeit und der bewältigten Entfernung entsteht [34]. Im Gegensatz zu Barber [2]

der bewaltigten Entternung entstent und in Übereinstimmung mit Schrader [54] dürfte die hoch viskose Spindelsubstanz von wesentlichem Einfluß bei der Langsamkeit der Anaphase-Chromosomen sein, auch wenn auscheinend 20 längere Chromosomen eines Ensembles sich nicht verzögerter als die kürzeren bewegen. Barbers 10 Folgerung [2], aus der Gleichheit der Geschwindigkeit aller Chromosomen eines Satzes resultiere ein "Stemmkörper"-Effekt, werden wir nicht als stichhaltig ansehen [34].

Sehr deutlich hängt das Maß der Chromosomengeschwindigkeit von der Versuchstemperatur ab [37], indem beispielsweise bei Tradescantia bei 10° mittlere Geschwindigkeiten von 0,004 bis 0,005 µ/sec gemessen worden (maximal 0,0043 bis 0,00583 µ/sec), da-

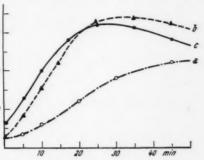


Abb. 2. Differenzen der Anaphasengegeschwindigkeit einzelner Chromosomen in Bindegewebekulturen von Triturus, dargestellt an Kurven des zeitlichen Ablaufes der Anaphase in Min. (als Abszisse) gegen die Entfernung der Centrosomen in  $\mu$  (als Ordinate). Im einzelnen beziehen sich die Kurven auf Temperaturen von  $18 \ (\bigcirc -----\bigcirc)$ ,  $22 \ (\triangle ----\triangle)$  und  $24^{\circ}$  C  $(\bullet -------)$ .

gegen bei 20—22° mittlere Geschwindigkeiten von 0,009 bis 0,0136  $\mu$ /sec, denen maximale zwischen 0,0165 und 0,0225  $\mu$ /sec entsprechen. Bei noch höheren Temperaturen pflegt die Geschwindigkeit der Chromosomen wieder

Tab. 2. Bewegungsraten (µ/sec) von Zellen, Zellorganellen und Organismen.

		-				-
Chloroplast von Funaria						0,0083
Anaphase-Chromosomen Tradescantia						0,0116
Chloroplast von Mesocarpus						0,013
Chromosomen von Herzfibroblasten						0,043
Idem von Bindegewebe in vitro						5-0,07
Zellverlängerung Avena-Koleoptile						
Längenzunahme Fragaria-Ranke						0,3
Idem des Pollenschlauchs (Datura)						
Limaxform einer Amöbe						
Idem einer Amoeba proteus						
Chloroplasten bei Cyclose (Elodea)						
Granum bei Strömen in Tradescantia						
Brownsche Bewegung in Milch						
Terminaler Cilienschlag (Mytilus)						
Schwimmbewegung der Trutta trutta.						
Flugbewegung von Chelidon rustica .						8,9 . 10

abzunehmen, sind doch bei 32–35°C mittlere Bewegungen bis höchstens 0,0125 bis 0,02083  $\mu$ /sec bestimmt worden. Ähnlich findet auch Buccian te [7] an Fibroblasten von Gallus domesticus eine Zunahme der mittleren Chromosomengeschwindigkeit von 21° (mit 0,0046  $\mu$ /sec) über 39° (mit 0,045  $\mu$ /sec) bis 41° (mit 0,0615  $\mu$ /sec) und dann ein Absinken bei 45° auf 0,05416  $\mu$ /sec. Einen in gewisser Hinsicht analogen Einfluß von Temperaturveränderungen finden wir bei Seeigeleiern, wie Cumingia, hinsichtlich der Viskosität [14; 15; 16], doch bestehen für die Deutung des Temperatureinflusses auf die Chromosomengeschwindigkeit noch so viele Unsicherheiten, daß die Frage hier besser offen gelassen wird.

### 3. Ergebnisse II - Masse und kinetische Energie der Chromosomen

Nach den überschlagenden Massenbestimmungen anden Chromosomen (s. Anwendung Gl. [3]) kommt man bei Annahme eines Brechungskoeffizienten des Karyoplasmas  $n_M$  von 1,499 [27; 30] und einem spezifischen Refraktionsinkrement [5] von a=0,0019 für die im wesentlichen aus Proteinen  $(a_{Pr}=0,0017$  bis 0,00188) und Nucleotiden  $(a_N=0,0018$  bis 0,0019) aufgebauten Chromosomen [6] zu der Größenordnung ihrer mittleren Masse von etwa 11.10–13 bis 16.10–13 g/100 ml Substanz. Mit diesem einer Größe von ungefähr 29.10–9 mg/ $\mu^3$  entsprechenden Werte ist man in einleuchtender Nachbarschaft zu Angaben von Hallén und Hydén [13], die für das Cytoplasma je nach Objekt 0,27.10–9 bis 0,31.10–9, durchschnittlich Werte in 10–9 mg/ $\mu^3$ , für den Kern ca. 0,29.10–9 mg/ $\mu^3$  verzeichnen.

Durch Hinzunahme der erhaltenen Größen der Bewegungsgeschwindigkeit (s. oben) lassen sich nach den einleitend angegebenen Gl. [1] und [2] die gesuchten Werte der kinetischen Energie der Chromosomen finden. Bei zweckmäßiger Umrechnung in erg (s. Tab. 3) sind nur sehr ge-

Tab. 3. Umrechnungswerte für verschiedene Energie-Maße (nach Kohlrausch).

_		erg	cal	kg-Gew.m	int. kWh	PS. sec
1	erg	_	2,3892 . 10-8	1,019716 . 10-8	2,77694 . 10-14	1,35962 . 10-10
1	cal	4,1855 . 107	_	4,2680 . 10-1	1,16228 . 10-6	0,56906 . 10-2
1	kg-Gew.m	0,980665 . 108	2,3430	_	2,72325 . 10-6	1,3333333 . 10-9
1	int. kWh	3,60108 . 1013	0,86038 . 106	3,67208 . 105	_	4,89611 . 103
1	PS.sec	0,735499 . 1010	1,7573 . 102	0,750000 . 102	2,04244 . 10-4	-

ringe Differenzen zwischen den Anaphasen-Chromosomen der verschiedenen Objekte gefunden worden, so daß man größenordnungsmäßig den Betrag von 8,52.10<sup>-13</sup> bis 12,39.10<sup>-13</sup> erg ansetzen kann.

Interessant scheint ein Vergleich der kinetischen Energie bei anderen Bewegungen von Zellen oder an oder in ihnen nach überschlagender Umrechnung von Angaben der Literatur [14]. So wird für die Bewegung von Amöben ein Druck von 8 dyn/cm² angegeben, wenn sie durch eine 20  $\mu$  dicke, 200  $\mu$  lange Kapillare mit einer Geschwindigkeit von 10  $\mu$ /sec strömen. Das Cilienen de eines Paramaecium entwickelt eine Kraft von 4,5.10-7 mg, d. h. 1 mg des Tieres

könnte 368 mg bewältigen. In diesem Falle wächst die Arbeit per Zeiteinheit proportional der dritten Potenz der Geschwindigkeit, so daß der wirksame Schlag des Cilienendes bei fünffacher Geschwindigkeitssteigerung 125mal so wirkungsvoll wie die Rückbewegung ist. Bei der Cyclose des Protoplasmas in einer Nitella-Zelle entwickelt ein Druck von 2,1 dyn/cm² einen Antrieb von 0,875 dyn, durch welchen eine Geschwindigkeit von 0,055 µ/sec und 1 g Plasma herbeigeführt wird. Nach jüngst veröffentlichten Messungen der Nitella-Cyclose durch K a m i y a et al. [18] bleiben der anzunehmende Druck (zwischen 1,2 und 1,8 dyn, im Durchschnitt 1,6 dyn/cm²) und sohin die Energie in derselben Größenordnung. Umrechnungen der kinetischen Energie dieser Bewegungen in erg verzeichnet die Tab. 4. Wie ersichtlich, werden von ihnen größenordnungsmäßig die Chromosomenbewegungen der Anaphase weit dahinter gelassen.

Tab. 4. Vergleich der kinetischen Energie (in erg) von Bewegungen an und in der Zelle.

Chromosomen in Bindegewebezellen von Triturus crist	at	us				8,52 . 10-18
Ebenso in Filamentzellen von Tradescantia virginica						10,18 . 10-13
Ebenso in roten Blutzellen von Triton sp						12,39 . 10-13
Cyclose von Nitella-Zellen			Į,		1	> 7,0 . 10-
Pasmabewegung von Amoeba proteus						8,0 . 10-
Vorwärtsschlag des Cilienendes von Paramaecium .						4,56 . 10-5

#### 4. Schlußbemerkungen und Ausblick

1. Die bei der Anaphasebewegung der Chromosomen wirksame Energie ist nach vorstehenden Ermittlungen gar nicht so groß, wie man wegen der Fortdauer der Wanderung gegen ein starkes Magnetfeld [23] oder gegen mäßige Zentrifugierung, etwa bei Eizellen von Rhynchelmis [26] annehmen sollte (weitere Lit. s. [25; 37; 40]). Die Werte stehen aber in Einklang mit Abschätzungen durch Friedrich - Freksa [12], wobei er mit Recht voraussetzt, daß die Proteinmolekeln das ganze Chromosom durchziehen, die Nucleinsäure aber auf die Chromomeren beschränkt bleibt [6].

Bei diesem Bauplan muß man an bestimmten Stellen konjugierter Chromosomen ein quer zu ihrer Längsachse gerichtetes Dipolmoment und eine kräftige Attraktion der Allelen erwarten, für welche die Beziehung

$$A = D_p^2 / \varepsilon l r^3 \tag{4}$$

gilt, wenn  $D_p$  die Summe aller parallel zueinander gerichteter Dipolmomente eines Chromosoms, l seine mittlere Länge,  $\varepsilon$  die Dielektrizitätskonstante des umgebenden Mediums (Karyoplasmas) und r den Abstand zweier Allele voneinander bedeuten. Setzt man beispielsweise  $r=1~\mu,~l=20~\mu,~$  die Zahl der dissoziierbaren basischen NH<sub>2</sub>-Gruppen der Hexobasen bzw. Nucleinsäurereste = 6, die Dielektrizitätskonstante des wäßrigen Milieus  $\varepsilon=80~$  und für die Dipolmomente die Größenordnung  $10^{-16}~$  ESE . cm, so folgt A=6 .  $10^{-12}~$  dyn und der Betrag der freien Energie bei Annäherung der Chromosomen auf  $0.1~\mu$  etwa in der Größenordnung  $10^{-14}~$  erg [12; 23]. Bei stärkerer Annäherung mißte sich dieser Wert erhöhen, so für eine Entfernung von 1~ m $\mu$  auf  $10^{-16}~$  erg. Unter den angenommenen Bedingungen würden sich Geschwindigkeiten von 0.05~ bis  $0.016~\mu$ /sec ergeben. Allerdings ist die Rechnung insofern unsicher, als nach einem Zitat von Milovidovidovidovidor Enhöhung der wirksteinen um vielleicht 2-3~ Zehnerpotenzen größer sein, einer Erhöhung der wirksteile der Schwindigkeiten von 1~ der Dipolmomente um vielleicht 2-3~ Zehnerpotenzen größer sein, einer Erhöhung der wirksteile der Dipolmomente um vielleicht 2-3~ Zehnerpotenzen größer sein, einer Erhöhung der wirksteile der Dipolmomente um vielleicht 2-3~ Zehnerpotenzen größer sein, einer Erhöhung der wirksteile der Dipolmomente um vielleicht 2-3~ Zehnerpotenzen größer sein, einer Erhöhung der virksteile der Dipolmomente um vielleicht 2-3~ Zehnerpotenzen größer sein, einer Erhöhung der virksteile der Dipolmomente um vielleicht 2-3~ Zehnerpotenzen größer sein, einer Erhöhung der virksteile der Dipolmomente um vielleicht 2-3~ Zehnerpotenzen größer sein, einer Erhöhung der virksteile der Dipolmomente um vielleicht 2-3~ Zehnerpotenzen größer sein, einer Erhöhung der virksteile der Dipolmomente um vielleicht 2-3~ Zehnerpotenzen größer sein, einer Erhöhung der virksteile der Dipolmomente um vielleicht 2-3~ Zehnerpotenzen größer sei

samen Kraft jedoch eine Reduktion der Attraktion durch wahrscheinlich unvollständige Polarisation gegenüberstehen möchte.

2. Bei der so unterschiedlichen Bewegungsgeschwindigkeit der Anaphase-Chromosomen könnte man fragen, ob nicht aus Werten der freien Energie ein neuer Hinweis auf die Mechanik der Chromosomenwanderung abgeleitet werden könnte (vgl. [8; 23; 25; 26; 34; 36; 37; 40]). Wegen übereinstimmender Ergebnisse nach den beiden präjudizierten Prinzipien wird sich zwischen elektro- und hydrodynamischem Mechanismus keine Entscheidung treffen lassen. (Zur Deutung als Elektrokinese s. [5; 31], über den Stand der Hypothesenbildung [38], S. 94, 717.) Nach meiner Deutung des Mitosegeschehens unter Heranziehung eines Bierknes-Prinzips [28] auf das Kerntaktoid [23; 25; 26] erlaubt aber die hydrodynamische Auffassung besser die Fortführung der begonnenen Experimentalanalyse. Befunde aus eigenen Versuchen zumal mit Bindegewebekulturen und aus Messungsergebnissen der Literatur [24; 32; 33], nach welchen die initiale Chromosomengeschwindigkeit im Laufe der Anaphase reduziert wird, sind offenbar von einer Abnahme der Oszillationsfrequenzen der Centrosomen [28] begleitet. So bleibt jetzt zu prüfen, ob oder wieweit Frequenz und Amplitude der Oszillationen mit den von den Centrosomen ausgeübten Kräften [38] und mit beobachteten Chromosomengeschwindigkeiten proportional gehen. Aber auch die Art der Beeinflussung beider Prozesse durch die Viskosität des umgebenden Karyoplasmas bedarf weiterer Untersuchung, von einer Steuerung des spezifischen Ablaufes der Konfiguration des Systems oder seiner pathologisch veränderten bzw. gegenläufigen Bahn durch genetische Faktorenkomplexe abgesehen. Der offenen Fragen verbleiben also noch genug.

#### Summary

Measurements of the motion speed of chromosomes being in anaphasis vary with object, temperature and, verisimiliter, with the viscosity of the karyoplasm. The values were combined with Schlieren-microscopic determinations of their mass, and from both the data there were computed the series of values of the kinetic energy of the moving chromosomes. The found series of quantities are lying between 8,52.10—13 and 12,59.10—13 ergon, and harmonize well with values received from estimations of dipole momentums between allelic chromosomes. For the future, there will be studied relations to quantitative differences between frequency and amplitude of oscillations of the centrosomes on one hand and the different movement speeds of the chromosomes on the other one, in order to discuss the anaphasic movement of chromosomes by means of the Bjerknes principle [28].

Nachwort. — Erst während der Niederschrift der Arbeit bekannt geworden sind mir Untersuchungen von Mota [23 a], welche ähnlich wie solche von Swann [36 a] für eine Autonomie der Chromosomenbewegung eintreten. Eine solche Interpretation braucht aber nicht in Widerspruch zu stehen, indem die Autonomie nach bereits früher vertretenen Vorstellungen [28] wahrscheinlich auf Abgabe unbekannter Substanzen durch die Centrosomen und deren Auswirkung auf die damals beschriebenen Oszillationen zurückzuführen sein könnte.

#### Literatur

- Adair, G. S., and M. E. Robinson, 1930: The specific refraction increments of serum-albumin and serum-globulin. Biochem. J. 24, 993.
- [2] Barber, H. N., 1959: The rate of movement of chromosomes on the spindle. Chromosoma 1, 37.
- [3] Barer, R., 1956: Phase contrast and interference microscopy. In: G. Oster and A. W. Pollister, Physical techniques in biological research 3, 29. New York.
- [4] Bělař, K., 1929: Beiträge zur Kausalanalyse der Mitose, II. Untersuchungen an den Spermatocyten von Chorthippus (Stenobothrus) lineatus Panz. Arch. Entw.mechan. 118, 359.
- [5] Bernstein, J., 1912: Elektrobiologie: die Lehre von den elektrischen Vorgängen im Organismus, auf moderner Grundlage dargestellt, Braunschweig.
- [6] Brachet, J., 1957: Biochemical cytology. New York.
- [7] Bucciante, L., 1927: Ulteriori ricerche sulla velocità della mitosi nelle cellules coltivate in vitro in funzione della temperatura. Arch. exper. Zellforsch. 5, 1.
- [8] Cornman, I., 1944: A summary of evidence of the traction fiber in mitosis. Amer. Naturalist 78, 410.
- [9] Davies, H. G., M. H. F. Wilkins, J. Chayen and L. F. La Cour, 1954: The use of the interference microscope to determine dry mass in living cells and as a quantitative cytochemical method. Quart. J. microsc. Sci. 95, 271.
- [10] Engström, A., 1950: Use of soft X-rays in the assay of biological material. Progr. in Biophys. 1, 164.
- [11] 1956: Historadiography. In: G. Oster and W. Pollister, Physical techniques in biological research 3, 489. New York.
- [12] Friedrich-Freksa, H., 1940: Bei der Chromosomenkonjugation wirksame Kräfte und ihre Bedeutung für die identische Verdoppelung von Nukleoproteinen. Naturwiss. 28, 376.
- [13] Hallén, O., and H. Hydén, 1957: Quantitation and automation in contact microradiography. Exper. Cell Res., Suppl. 4, 197.
- [14] Heilbrunn, L. V., 1952: An outline of general physiology, 3rd ed. Philadelphia.
- [15] 1956: The dynamics of living protoplasm. New York.
- [16] 1958: The viscosity of protoplasm. Protoplasmatologia II. C 1. Wien.
- [17] Hughes, A., and M. Swann, 1948: Anaphase movements in the living cell. A study with phase contrast and polarized light on chick tissue cultures. J. exper. Biol. 25, 45.
- [18] Kamiya, N., and K. Kuroda, 1958: Measurement of the motive force of the protoplasmic rotation in Nitella. Protoplasma 50, 144.
- [19] Meyer-Arendt, J. R., 1956: New method for mass determinations on microscopic particles. Science 123, 1176.
- [20] 1956: Schlieren methods as quantitative approach in histochemistry. Riv. Istochim. 2, 191.
- [21] 1956: Über die Bestimmung der Masse biologischer Objekte durch ein mikroskopisches Schlierenverfahren. Z. wiss, Mikrosk. 63, 385.
- [22] 1957: Schlieren method for mass determination in microscopic dimensions. Rev. Sci. Instruments 28, 28.
- [23] Milovidov, P. F., 1949, 1954: Physik und Chemie des Zellkernes. Protopl.-Monogr., vol. 20 und 21. Berlin-Nikolassee.

[23a] Mota, M., 1958: A new hypothesis of the anaphase movement. Proceed. Int. Genet. Symposia Tôkyô a. Kyotô 1956, 113.

[24] Olivo, O., 1934: La mitose des cellules humaines cultivées "in vitro". Bull. Assoc. Anat., 29. réunion (Bruxelles), 441.

- [25] Östergren, G., 1949: Equilibria and movements of chromosomes. Proc. VIII<sup>th</sup> intern. Congr. Genetik 1948, Hereditas Suppl. Vol., 688.
- [26] Pfeiffer, H. H., 1939: Experimentelle Beiträge zur Mitosephysik. Arch. exper. Zellforsch. 22, 263.
- [27] 1951: Über den Gang der Refraktion des Cytoplasmas während der Mitose. La Lellule 54, 49.
- [28] 1956: Über die Mitwirkung rhythmischer Oscillationen der Centrosomen bei mitotischen Chromosomenbewegungen, Weber-Festschr. Protoplasma 46, 585.
- [29] 1957: Diskussionsbemerkung ad: H. G. Davies (Measurement of protein by interference microscopy) beim IV. Sympos. f. Histochemie (Köln 1956), s. Acta Histochem. 3, 251.
- [30] 1959: Die Refraktion des Protoplasmas. Protoplasmatologia II. C. 6 a, im Erscheinen (Springer, Wien).
- [31] Pirovano, A., 1935: Visuali elettrologiche e realtà sperimentale sulle figure mitotiche e sui nuclei cellulari. Riv. Biol. 19, 1.
- [32] Ris, H., 1946: A quantitative study of anaphase movement in the aphid Tamalia. Biol. Bull. 85, 164.
- [33] 1949: The anaphase movement of chromosomes in the spermatocytes of the grasshopper. Biol. Bull. 96, 90.
- [54] Schrader, F., 1944: Mitosis. New York (auch übersetzt von Joh. Zopp, Wien 1954).
- [35] Senn, G., 1908: Die Gestalts- und Lageveränderungen der Pflanzen-Chromatophoren. Leipzig.
- [36] Steinhauf, D., 1958: Untersuchungen über die Cytodynamik der Spermatogenese von Oedipoda coerulesceus. Protoplasma 50, 109.
- [36a] Swann, M. M., 1952: Structural agents in mitosis, Internat. Rev. Cytol. 1, 195.
- [37] Tischler, G., 1942—1951: Allgemeine Pflanzenkaryologie, 2. Hälfte: Kernteilung und Kernverschmelzung, 2. Aufl., Berlin.
- [58] 1953: (Fortgeführt von H. D. Wulff), Allgemeine Pflanzenkaryologie, Ergänzungs-Bd. Berlin.
- [39] Waris, H., 1950: Cytophysiological studies on Micrasterias, I. Nuclei and cell division. Physiol. Plant. (Copenhagen) 3, 1.
- [40] Wassermann, F., 1929: Wachstum und Vermehrung der lebendigen Masse. In: W. v. Möllendorff, Handb. d. mikrosk, Anat. d. Menschen 1, 2. Berlin.
- [41] Webster, A.G., 1927: Partial differential equations of mathematical physics. Leipzig und Wien.
- [42] Wolter, H., 1956: Schlieren-, Phasenkontrast- und Lichtschnittverfahren. In: S. Flügge, Handb. d. Phys. 24, 255. Berlin.

# Phasenoptische Untersuchungen an Fruchtfleischzellen von Symphoricarpus racemosus Hooker<sup>1</sup>

Von

### Walter Url

Aus dem Pflanzenphysiologischen Institut der Universität Wien

Mit 24 Textabbildungen

(Eingegangen am 9. Februar 1959)

# Einleitung

Das Phasenkontrastverfahren hat die Vitalbeobachtung der Zellorganellen entscheidend erleichtert und zum Teil eine eingehende Analyse überhaupt erst ermöglicht. S t r u g g e r (1947) hat es als ersier zur Untersuchung von Zellen höherer Pflanzen herangezogen. Er wählte die Innenepidermis von Allium cepa, ein ebenso bekanntes wie nach seinen Angaben (1931, 1949) leicht zu präparierendes Objekt. Das phasenoptische Bild der drei auffälligsten Cytoplasmaeinschlüsse, nämlich Chondriosomen, Leukoplasten und Mikrosomen (Sphärosomen), wird beschrieben. Die Chondriosomen zeigen sich im Phako als homogen schwarzgraue Gebilde ohne Diffraktionserscheinungen im Inneren, die Leukoplasten ähnlich, doch größer und verzweigtamöboid. Die Sphärosomen sind rund, schwarz konturiert und haben einen hellen Hof. Die Chondriosomen sind von den Leukoplasten auch dadurch unterschieden, daß letztere ein Primärgranum besitzen, welches S t r u g g e r wenig später nachwies (1950, 1951, 1954 a, b, c).

Während die Sphärosomen bei Allium im gewöhnlichen Hellfeldmikroskop auch bei schwacher Vergrößerung ohne weiteres sichtbar sind und selbst Chondriosomen und Leukoplasten für den geübten Mikroskopiker, besonders bei Anwendung guter Optik (Immersion und Kondensor hoher Apertur) im Hellfeld zu sehen sind, ist das Primärgranum fast nur im Phako (oder aber auch im Dunkelfeld, vgl. Perner 1954, S. 27) darzustellen.

Das Phasenkontrastverfahren hat heute allgemeine Anwendung in der botanischen Cytologie gefunden, und seit Struggers erster Arbeit ist eine

<sup>&</sup>lt;sup>1</sup> Nach Janchen (1958, S. 577) führt die Pflanze jetzt den Namen Symphoricarpos rivularis Suksdorf.

große Reihe von Publikationen erschienen, die sich ganz oder teilweise der phasenoptischen Analyse der Zelle widmen (z. B. Strugger 1947, Perner 1952, 1953, 1954, Perner und Pfefferkorn 1953, Perner und Losada-Villasante 1956, Jarosch 1958, Höfler und Url 1958, Biebl und Url 1958, Zusammenfassung bei Steffen 1955).

Eine Übersicht über diese Arbeiten zeigt, daß vielfach die Allium-Innenepidermis als Objekt gewählt wurde, die in der Tat, seit Struggers erster phasenoptischer Arbeit, eines der wenigen ideal zu präparierenden und vor allem vielleicht das einzige jederzeit leicht erreichbare Objekt geblieben ist. Doch besitzen die Allium-Innenepidermen auch gewisse Nachteile bei der Anwendung der Phasenoptik. Besonders die anhaftenden Reste der Antiklinmembranen stören mit ihren starken Diffraktionssäumen das Bild (vgl. Strugger 1947, S. 137), doch können auch die schwachen Strukturen der Flächenmembranen den Kontrast herabsetzen.

So ideal nun die Zwiebelinnenepidermis im allgemeinen als Phasenobjekt ist, muß doch getrachtet werden, Erfahrungen auch an anderen Zellsorten zu sammeln. Perner und Losada-Villasante (1956) untersuchten so die Wurzelhaare von *Trianea bogotensis* und konnten z. B. auch hier in den Leukoplasten phasenoptisch und im Dunkelfeld Primärgranen nachweisen. Nachteile dieses Objektes sind der zylindrische Bau der Trichome, der optimale Beobachtung nur in einem kleinen Teil des Plasmawandbelages erlaubt, und der Plasmareichtum der Zelle.

Als ein für phasenoptische Beobachtungen besonders geeignetes Objekt erwiesen sich nun die Fruchtfleischzellen der Beere von Symphoricarpus racemosus Hooker. Das Fruchtfleisch der reifen Beere wird in den Anfängerpraktika (z. B. Biebl und Germ 1950) schon seit langer Zeit als Objekt zur Demonstration der natürlichen Mazeration verwendet, über die Anatomie und die Entwicklung dieser Frucht berichtet Kraus (1949). Danach geht bei der Vergrößerung des Fruchtknotens die grüne Farbe desselben verloren, "... was auf ein Verschwinden der Chloroplasten und eine Zunahme der Interzellularengröße zurückzuführen ist" (l. c. S. 343). Besonders die Zwischenparenchymzellen der Fruchtwand nehmen an Ausdehnung zu, und den Zustand der reifen Frucht beschreibt Kraus folgendermaßen (s. 344): "Bei der vollreifen Frucht hat das Fruchtfleisch eine schaumige Beschaffenheit, ist durchaus weiß und ragt mit unregelmäßigen Vorwölbungen in die sekundären Fruchtfächer hinein. Die Zellen des Fruchtfleisches sind mit freiem Auge sichtbar. Die äußere Epidermis, deren Zellwände jetzt stark verdickt sind, ist mit einer dicken Cuticula überzogen, die der Beere einen leicht gelblichen Farbton verleiht. Auch die Zellwände des Hypoderms sind stark verdickt, die Zellen selbst tangential gestreckt und bilden zusammen mit der äußeren Epidermis eine vom übrigen Fruchtfleisch leicht abzuhebende "Haut". Die Zwischenparenchymzellen sind rund, meist aber radial gestreckt und prall gefüllt.

Abb. 1 (aus K r a u s 1949) zeigt einen Querschnitt durch die reife Frucht. Der eingezeichnete Maßstab (20  $\mu$ ) ist zu klein, er soll wohl 200  $\mu$  bedeuten. Die größeren runden Zellen besitzen oft einen Durchmesser von 230—250  $\mu$ ,

längliche Zellen haben Maße von z. B.  $216 \times 370~\mu$ ,  $140 \times 200~\mu$ ,  $90 \times 190~\mu$ , kleinere runde Zellen haben Durchmesser von etwa  $100~\mu$ .

Für die Beobachtung im Phasenkontrast eignen sich besonders die großen runden Zellen. Die länglichen sind weniger geeignet, weil sie erstens eine kleinere für die Beobachtung taugliche Plasmafläche besitzen und zweitens oft mannigfach verdreht sind, mit Ausstülpungen, mittels derer sie an den anderen Zellen ansitzen.

Die Anfertigung des Präparates erfolgt in der Weise, daß man zuerst mit einer Rasierklinge einen T-förmigen Schnitt in die Haut der Beere macht,

dann die Zipfel zurückschlägt und etwas des mehligen Fruchtsleisches mit einer Pinzette entnimmt. Die Zellen wurden immer in schwachen Zuckerlösungen (0,1 und 0,15 mol) untersucht, um Hypotonieschädigungen hintanzuhalten. Aus diesem Grunde wurde auch auf die bei Biebl und Germ (1950) empfohlene Entlüftung der Beeren verzichtet. Die mit der Pinzette entnommenen Fruchtsleischzellen wurden in einem Tropfen der Zuckerlösung auf dem Objektträger vorsichtig verteilt. Trotzdem dünne Präparate für die Beobachtung besser sind, ist doch darauf zu achten, daß sich genügend Flüssigkeit unter dem Deckglas befindet, da Druck die Zellen sofort alteriert.

Für die Beobachtung im Phasenkontrast wie auch im Dunkelfeld weisen die Symphoricarpus-Zellen einige große Vorteile etwa gegenüber den Allium-Zellen auf. Die Zellwand ist extrem dünn und stört den Phako in keiner Weise, vor allem gibt es keine Antiklinmembranen. Der Plasmawandbelag ist dünn und die Präparate sind schnell und leicht herzustellen. Der größte Nachteil des Objekts ist der, daß es nicht das ganze Jahr zur Verfügung steht und daß die Zellen gegen Druck viel empfindlicher sind als etwa jene von Allium. Sie sind auch für physiologische Versuche weniger geeignet, da man das mazerierte Material schwer handhaben kann.

Die dünne strukturlose Zellwand, der dünne Plasmawandbelag und der relativ große Zellsaftraum machen die Zellen von *Symphoricarpus* besonders geeignet für Untersuchungen mit dem Anoptralkontrastverfahren. 西文文文文

Abb. 1. Querschnitt durch den fleischigen Wandteil der reifen Frucht von Symphoricarpus racemosus (aus Kraus 1949, S. 342, Abb. 4).

Dieses von Wilska (1953, 1954) angegebene Verfahren, für welches die Optischen Werke C. Reichert, Wien, Objektive bauen, zeichnet sich dadurch aus, daß zur Erhöhung des Bildkontrastes Phasenringe höchster Absorption verwendet werden. Dadurch wird die Empfindlichkeit des Phasenkontrastverfahrens erhöht, so daß Einzelheiten mit feinsten Brechwertunterschieden noch gut differenziert werden. Um der Gefahr der Inversion, das ist die Erscheinung, daß Objektteile, die größere Phasenverschiebungen verursachen, im positiven Phako nicht dunkel, sondern hell wiedergegeben

werden, zu entgehen, wurden die Anoptralobjektive für negativen Phako konstruiert (vgl. G a b l e r 1955). In der medizinischen und bakteriologischen Forschung, wo oft besonders dünne Präparate zur Verfügung stehen, hat das Anoptralverfahren schon gute Dienste geleistet (z. B. Schüller 1956, E i s e n h u t 1958, R i n d 1958). Das Anoptralverfahren zeigt bei Präparaten mit verschiedenen übereinanderliegenden Details noch größere Störungen als der gewöhnliche positive Phako. Störungen, durch Antiklinmembranen etwa, wirken sich also stärker aus, Die Symphoricarpus-Zellen sind für das Anoptralverfahren ideale Objekte. Überstrahlungen durch die Details des unteren Plasmawandbelages sind durch die große Ausdehnung des Zellsaftes ausgeschlossen, doch werden solche manchmal durch den starken Phako des Kernes verursacht (Abb. 6, 7). Der große Durchmesser der Zellen bedingt relativ dicke Präparate. Das hat, wie erwähnt, kaum einen Einfluß auf die Qualität des Bildes, doch ist es deswegen kaum möglich, bei Immersionsvergrößerung auf den unteren Plasmawandbelag der Zellen einzustellen, da schon vorher das Objektiv auf das Deckglas drückt.

Die im folgenden beschriebenen Beobachtungen an den Organellen der Fruchtsleischzellen von Symphoricarpus racemosus wurden sämtlich mit dem großen Forschungsmikroskop "Zetopan" der Optischen Werke C. Reichert, Wien, durchgeführt. Mit Ausnahme der Abb. 2, die mit einem Objektiv 10:1, und der Abb. 6, die mit einem Anoptralobjektiv 45:1 photographiert wurden, sind alle Abbildungen Immersionsaufnahmen, welche verschieden stark nachvergrößert wurden. Den Optischen Werken C. Reichert bin ich für die leihweise Überlassung verschiedener Zusatzgeräte (Zirkonlampe, Hg-Höchstdruckbrenner) zu Dank verpflichtet. Die Untersuchungen wurden im Oktober 1958 an vollreifem Beerenmaterial durchgeführt.

#### Das Bild der normalen Zelle

Ein Überblicksbild (Abb. 2) zeigt im positiven Phako bei ungefährer Einstellung auf die Zellmitte die Plasmastränge, die den Zellsaftraum durchziehen und an denen der Kern aufgehängt ist. Die Stränge sind sehr verschieden dick und manchmal zu segelartigen Gebilden ausgezogen. Das Plasma zeigt bei gesunden Zellen herrliche Zirkulationsströmung. Diese ist in den Strängen fast überall zu beobachten, im Plasmawandbelag sind aber größere Bezirke fast in Ruhe, welche von oft relativ schmalen, eng beieinanderliegenden, verschieden gerichteten Strombahnen unterbrochen werden. Abb. 3 zeigt einen Ausschnitt aus einem solchen Bezirk. Oben und unten ist das Plasma in Ruhe, in der Mitte erkennt man deutlich drei Bahnen, die besonders durch die wegen der relativ langen Belichtungszeit (1/5 Sekunde) verwischten Streifen der durch die Strömung mitgenommenen Chondriosomen gekennzeichnet sind. Abb. 4 und 5 zeigen einen relativ in Ruhe befindlichen Plasmabezirk, zuerst im positiven, dann im Anoptralkontrast. Man erkennt deutlich das höhere Auflösungsvermögen des letzteren. Während im positiven Phako nur die größte der Plasmavakuolen dargestellt wird (im Bild etwas rechts von der Mitte), tritt im Anoptralkontrast noch eine feinere Schaumstruktur hervor (oberhalb der großen

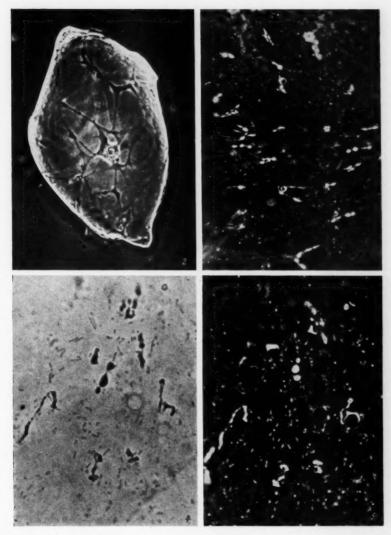


Abb. 2. Fruchtfleischzellen bei schwacher Vergrößerung im positiven Phako. Der Kern hängt an Plasmasträngen in der Mitte der Vakuole.

Abb. 3. Plasmapartie im Anoptralkontrast, in der Mitte drei Strombahnen.

Abb. 4 und 5. Die gleiche Plasmapartie im positiven Phako und im Anoptralkontrast, kurz hintereinander photographiert.

Vakuole und am rechten Bildrand). Im Anoptralkontrast sieht man auch, daß der rechts liegende hakenförmige Leukoplast an einer solchen Vakuole anliegt, ein Detail, das im positiven Phako ebenfalls verlorengeht.

Von den Organellen fallen zunächst die stark kontrastierten Leukoplasten auf, die zum Teil absonderliche Formen und starke Amöboidie zeigen. Daneben erkennt man die mehr oder minder langgestreckten, wesentlich kleineren und viel schwächeren Phako zeigenden Chondriosomen und als kleine Punkte die Sphärosomen, Abb. 5 wurde kurz nach Abb. 4 aufgenommen. Man sieht, daß in der kleinen Zeitspanne, welche das Umschalten des Objektivs und die Neueinstellung der Kamera benötigt (noch nicht einmal eine Minute), die Leukoplasten ihre Form und Lage schon stark geändert haben, obwohl ein extra ruhiger Plasmabezirk ausgesucht wurde. Die Plasmabewegung setzt der Mikrophotographie, besonders bei den hier angewendeten starken Vergrößerungen, große Widerstände entgegen. Bei Verwendung der Niedervoltlampe (6 V) sind bei voller Ausnützung der Überspannungsmöglichkeit im positiven Phako noch immer Belichtungszeiten von 1/10 bis 1/5 sec 1 und im Anoptralkontrast gut das Doppelte erforderlich. Die Zirkonlampe mit ihrem etwa fünf- bis sechsmal stärkeren Licht erlaubt zwar Momentaufnahmen, doch schädigt das starke Licht schon die Zellen, ein Umstand, der sich beim Hg-Brenner (obschon alles UV sorgsam abgefiltert ist) noch wesentlich stärker bemerkbar macht.

Der Kern der Fruchtfleischzellen ist, wie erwähnt, zumeist an Plasmafäden frei in der Mitte der Zelle aufgehängt, er kann aber auch im Plasmawandbelag liegen. Die Abb. 6 und 7 zeigen Kerne bei verschieden starker Vergrößerung. Der Durchmesser der Kerne beträgt etwa 17—20  $\mu$ , jener der Nucleoli etwa 4,5—6  $\mu$ . Die Kerne sind in einer ziemlich dicken Plasmahülle eingebettet.

Die Chondriosomen, deren Form die Abb. 4, 5, 9 und 13 zeigen, sind denen von *Allium* ähnlich. Sie sind meist stäbchenförmig bis oval und kleiner als bei *Allium*. Ihre Länge beträgt oft 2—3  $\mu$ , ihre Dicke übersteigt

<sup>&</sup>lt;sup>1</sup> Der verwendete Kleinbildfilm war Perutz-Pergrano <sup>14</sup>/<sub>10</sub> DIN. Die Abb. 11, 14, 15 und 17 wurden auf Perutz-Peromnia <sup>21</sup>/<sub>10</sub> DIN angefertigt. Das Korn tritt hier schon störend in Erscheinung.

Abb. 6. Plasmastränge und Kern im Anoptralkontrast. Die Stränge in normalem Zustand.

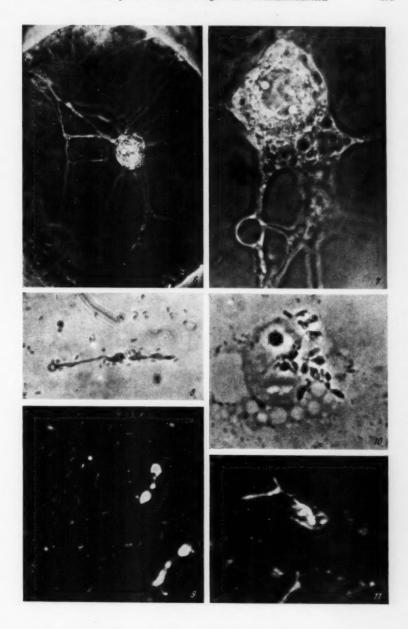
Abb. 7. Beginnende Schädigung. Vakuolisierung der Plasmastränge.

Abb. 8. Langgestreckter Leukoplast mit links liegender Endvakuole. Positiver Phako.

Abb. 9. Plastiden, Chondriosomen und Sphärosomen im Anoptralkontrast.

Abb. 10. Traubig verzweigte, beim Kern gesammelte Leukoplasten im positiven Phako. Die Granen sind gut zu sehen.

Abb. 11. Stark verzweigter Leukoplast mit gegabeltem Fortsatz im Anoptralkontrast.



Protoplasma, Bd. LI/3

selten 0,5  $\mu$ . Viele Chondriosomen sind kürzer, doch sind in normalen Zellen nie kugelrunde zu beobachten.

Auffällig sind kreisrunde Gebilde, die sich immer nur in geringer Zahl in der Zelle finden. Die Abb. 8 und 9 zeigen solche im positiven Phako und im Anoptralkontrast. In Abb. 8 liegt der Körper links, fast senkrecht ober der Endvakuole des langgestreckten Plastiden. Er ist von dem knapp darunterliegenden, etwas abgekugelten Chondriosom gut durch seinen stärkeren Phako zu unterscheiden. In Abb. 9 liegt ein solcher Körper im oberen Bildteil, etwas nach oben links vom vakuolenhaltigen Teil des Leukoplasten, in Abb. 18 ist einer in der linken unteren Ecke zu sehen.

Diese Körper besitzen einen Durchmesser von rund 1,2 bis 1,5  $\mu$  und sehen durch ihren gleichförmigen Phasenkontrast wie abgekugelte Chondriosomen aus. Dagegen spricht aber, daß sie auch in völlig intakten Zellen zu beobachten sind, wo die Chondriosomen alle stäbchenförmig sind, und daß ihr Phako immer stärker ist als der der Chondriosomen. Im ruhenden Plasma befinden sich diese Körper in schwacher BMB, sie werden aber auch von der Plasmaströmung mitgeführt. Im Dunkelfeld unterscheiden sie sich von den Chondriosomen dadurch, daß ihr Saum heller ist, manchmal vielleicht so hell wie der der Leukoplasten.

Die Sphärosomen sind viel kleiner als jene der *Allium*-Innenepidermiszellen. Im positiven Phako sieht man sie als kleine schwarze Punkte (Abb. 4), im Anoptralkontrast als winzige helleuchtende Punkte (Abb. 9).

Wegen ihrer geringen Dimension zeigen sie keinen Hof, wie etwa die Sphärosomen von Allium. Ihre Größe ist ziemlich verschieden. Die größten haben einen Durchmesser von höchstens 0,5—0,7  $\mu$ , die kleinsten messen etwa ein Drittel von diesen. Man sieht an den verschiedenen Sphärosomen sehr schön die Abhängigkeit der Amplitude der BMB von der Größe,

Die großen, stark amöboiden Leukoplasten haben oft sehr lange Fortsätze oder sind überhaupt sehr langgestreckt (Abb. 4, 8, 11, 13, 17). Kleinere Leukoplasten, die oft aus zwei oder drei eiförmig bis gestreckt-ovalen Stromateilen bestehen, welche untereinander durch dünne Stränge verbunden sind (Abb. 3, 4, 9, 12), weisen eine Länge von z. B. 4–5  $\mu$  auf und sind an der dicksten Stelle 1,5–1,9  $\mu$  breit. Große, gestreckte Leukoplasten sind z. B. 1,5–1,7  $\mu$  breit und bis über 20  $\mu$  lang. Die Plastiden befinden sich ziemlich in Ruhe bzw. zeigen schwach amöbenartige Bewegung. Zuweilen werden sie von der Strömung aber recht rasch mitgeschleppt. Bizarre Leukoplastenformen, wie sie Abb. 11 zeigt, sind nicht selten, auch Gabelung der Stromafortsätze ist öfter zu beobachten. Einigermaßen typisch sind jedoch die aus mehreren oval-bauchigen Teilen bestehenden Leukoplasten. Daneben gibt es manchmal verzweigt-traubige Leukoplasten (Abb. 10).

Auffällig ist, daß die Leukoplasten praktisch nur im Plasmawandbelag zu finden sind, nicht jedoch in den die Vakuole durchziehenden Plasmasträngen. Wenn der Kern im Plasmawandbelag liegt, sammelt sich häufig um ihn eine größere Zahl von Plastiden (Abb. 11), wie das ja bei Pflanzenzellen oft zu beobachten ist. Eine systrophische Ballung von Leukoplasten kann aber auch ohne räumliche Beziehung zum Kern erfolgen. Abb. 17

zeigt einen solchen Fall, die hellen Striche, die von den Leukoplasten nach rechts weggehen, sind lange dünne Fortsätze derselben.

Eine Erscheinung, die bei Allium-Innenepidermiszellen fast regelmäßig zu beobachten ist, zeigen die Symphoricarpus-Zellen kaum. Bei der Allium-Innenepidermis tritt im Präparat schon nach kurzer Zeit eine wohl durch die Schwerkraft verursachte Verarmung des oberen Plasmawandbelages an Organellen ein. Diese sammeln sich dann im unteren Plasmawandbelag. Jarosch (1956 a, S. 481) beschreibt diese Erscheinung für die Sphärosomen, doch trifft dies gleichermaßen für Leukoplasten, Chondriosomen und auch den Kern zu. Die Symphoricarpus-Zellen zeigen demgegenüber auch nach längerer Zeit eine recht regelmäßige Verteilung der Organellen. Vielleicht liegt der Grund darin, daß der Plasmawandbelag sehr dünn ist und starke Strömung herrscht. Die näheren Gründe für das Absinken der Organellen bei Allium wären zu untersuchen. Trotz der Schwerkraft sind in der unverletzten Zwiebel die Organellen ja recht gleichmäßig verteilt.

Besonders schön sind bei Symphoricarpus im Phako in den Leukoplasten die Granen zu sehen. Abb. 12 zeigt einen Plastiden im Anoptralkontrast mit drei deutlich sichtbaren hellerleuchtenden Granen. Auch in den Abb. 4, 8, 10, 11, 16, 20 und 22 sind die Granen in den Plastiden zu erkennen. Die Leukoplasten können recht viele Granen enthalten. Die Größe der Granen ist verschieden. Die kleineren sind etwa ebenso groß wie die kleineren Sphärosomen. Im Dunkelfeld leuchten die Granen hell auf. Sie sind mit den Sphärosomen aber nicht zu verwechseln, erstens weil sie sich fast in Ruhe befinden, während die Sphärosomen starke BMB zeigen, und dann, weil sie sich innerhalb des stark leuchtenden Plastidensaumes befinden. Daneben enthalten die Leukoplasten auch größere Inhaltskörper, wohl Stärke (vgl. Struggerund Perner 1956, S. 716). Abb. 14 und 15 zeigen einen Leukoplasten einmal in positivem Phako, dann im Anoptralkontrast. Neben den Granen enthält er einen im Anoptralkontrast helleuchtenden Inhaltskörper, der im positiven Phako (Inversion!) ebenfalls hell erscheint.

Bei der Beurteilung der Leukoplasten ist zu bedenken, daß die Fruchtfleischzellen von Symphoricarpus ein gewissermaßen prämortales Gewebe darstellen. Die multigranulären Leukoplasten stehen auf einer extrem somatisierten Stufe. In diesem Zusammenhang erscheint es notwendig, die Entwicklung der Leukoplasten bei der Entstehung der Frucht zu verfolgen. Auch wäre zu untersuchen, auf welche Weise "... die grüne Farbe zugunsten einer Weißfärbung verlorengeht", wie Kraus (1949, S. 343) schreibt. Kraus erwähnt, daß sowohl die starkwandigen Epidermiszellen wie Hypoderm und Zwischenparenchym zunächst Chlorophyll führen.

Auch in völlig intakten Zellen sind in vielen Leukoplasten Vakuolen zu sehen. Wie die Übersichtsbilder zeigen (Abb. 3, 4), ist die größere Zahl der Plastiden aber doch vakuolenlos. Die Vakuolen treten als "Endvakuolen" (Abb. 8, 14) oder als "Binnenvakuolen" (Abb. 16, 17) auf (vgl. Bieblund Url 1958, S. 338). Zwischen beiden gibt es alle Übergänge. Die Umhüllung der Vakuolen durch das Stroma kann ganz dünn sein (Abb. 8, 14—15) oder aber auch ziemlich breit, wobei sogar Granen in ihr liegen können (Abb. 16).

Abb. 16 zeigt auch, daß eine Vakuole seitlich sitzen kann, wobei ein Teil ihrer Umhüllung durch das Stroma sehr dünn sein kann.

W. Url

Außer den beschriebenen Organellen befinden sich in den Zellen noch größere kreisrunde Gebilde, wahrscheinlich Fett. Jede Zelle besitzt nur eine oder zwei dieser Kugeln. Sie werden von der Plasmaströmung langsam mitgeschleppt. In Abb. 2 ist solch eine Kugel rechts unter dem Kern liegend zu sehen. Der Durchmesser ist verschieden, kann aber bis über 4,5  $\mu$  betragen.

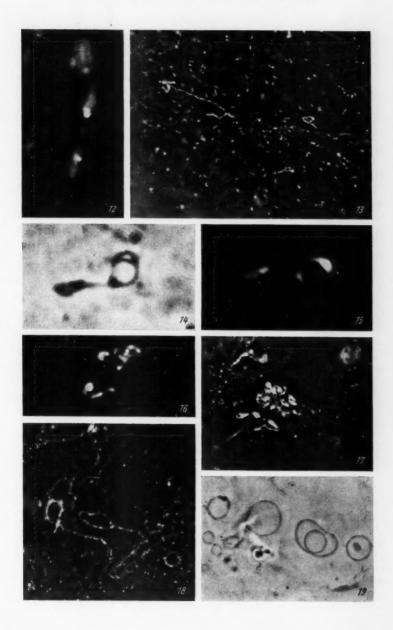
Bei Anwendung besten Dunkelfeldes und starkem Licht (Hg-Brenner) sind im Plasma zuweilen kleinste, an der Grenze der Sichtbarkeit liegende Gebilde zu erkennen. Sie zeigen ein typisches Funkelphänomen, d. h. sie blitzen auf und verschwinden dann wieder. Nach einer mündlichen Mitteilung Prof. Struggers könnte es sich um Golgikörper handeln (vgl. dazu die Literatur bei Sitte 1958, Perner 1958), doch ist es ebenso möglich, daß es sich um kleinste Kristalle, Lipoidtröpfehen oder ähnliches handelt. Die Größe der Golgikörper beträgt nach Perner (1958) etwa  $0.4-1~\mu \times 0.1~\mu$ . Perner weist darauf hin, daß auch bei Allium kleinste, im Dunkelfeld nachweisbare Partikel Elemente des Golgisystems sein könnten (l. c. S. 438).

Die sternförmigen Körper Struggers (1957), welche Sitte (1958) als schlecht fixierte und daher geschrumpfte Lipoidtröpfehen anspricht, sind etwa so groß, daß sie mit gutem Dunkelfeld zu sehen sein müßten. Wegen der geringen Dimension der Gebilde ist ihre Form nicht eindeutig zu identifizieren. Das Funkelphänomen deutet eher auf eine mehr plättchenförmige Ausbildung hin, wie sie den Golgikörpern ja zukommt. Gegen eine kugelrunde Form deutet auch die eigentümlich taumelnd-zitternde BMB. Man darf aber nicht außer acht lassen, daß so kleine Körper auch schon dann unsichtbar werden, wenn sie sich nur ein klein wenig aus der optischen Ebene entfernen und so auch mehr oder weniger kugelrunde Körper ein Funkelphänomen geben können.

#### Das Bild der alterierten und absterbenden Zelle

Nach längerem Liegen unter dem Deckglas, z. B. nach 15 Minuten, vermindert sich nach und nach die Vitalität der Zellen. In den meisten Fällen

- Abb, 12. Leukoplast mit Granen im Anoptralkontrast.
- Abb. 13. Plasmapartie mit langgestrecktem Leukoplast. Beginnende Vakuolisation des Plasmas. Anoptralkontrast.
- Abb. 14 und 15. Plastid mit Vakuole, Granen und Einschlußkörper (Stärke) im positiven und Anoptralkontrast.
  - Abb. 16. Leukoplasten mit Vakuolen und Granen. Anoptralkontrast.
- Abb. 17. Systrophisch geballte Leukoplasten mit dünnen Fortsätzen im Anoptralkontrast.
  - Abb. 18. Beginnende Schädigung, Plasmaleisten im Anoptralkontrast.
- Abb. 19. Vom Plasmawandbelag mehr oder weniger abgeschnürte Vakuolen, die in den Zellsaftraum ragen. Positiver Phako.



verlangsamt sich zunächst die Plasmaströmung, und zwar zuerst in den die Vakuole durchziehenden Plasmasträngen. Ein erstes Zeichen beginnender Schädigung ist auch Vakuolenbildung in den Plasmasträngen, zu einem Zeitpunkt, wo in diesen noch gute Strömung zu beobachten ist. Abb. 6 zeigt den normalen Zustand der Plasmastränge, Abb. 7 die beginnende Vakuolenbildung. Die große rechts aus dem Strang herausragende Vakuole wurde mit ziemlicher Geschwindigkeit von der Strömung vom Kern weggeschleppt (Belichtungszeit dieser Anoptralaufnahme mit Zirkonlampe ½5 sec). Im Plasma erkennt man an Abb. 7 einzelne Sphärosomen.

Nach dem Aufhören der Strömung in den Plasmasträngen geht diese im Wandbelag noch längere Zeit weiter. Hier bilden sich dann manchmal Plasmaleisten aus, die senkrecht zum Wandbelag stehen und so in den Zellsaftraum ragen. Man sieht sie als Schleifen und Ringe (Abb. 18). Das Plasma strömt noch langsam und bewegt die in den Leisten gesammelten Sphärosomen. Wenn man auf die seitliche Zellwand einstellt, sieht man, daß diese Leisten oft Schleifen bilden, die in den Zellsaftraum ragen, Das Bild ähnelt den von I arosch (1958, Abb. 12, S. 103) abgebildeten blasenbzw. handschuhförmigen Ausstülpungen an Plasmatropfen aus ausgepreßten Chara-Zellen. Diese Ausstülpungen können sich teilweise oder fast ganz vom Plasmawandbelag lösen und ergeben dann in den Zellsaftraum ragende, leicht flottierende kleine Vakuolen (Abb. 19). Die Entstehung der doppelten Vakuole ist vielleicht so zu erklären, daß bei der teilweisen Ablösung vom Plasmawandbelag eine größere Vakuole über eine kleinere hinwegglitt und sie so einschloß. Auch Jaroschs Abbildung (l. c.) zeigt zum Teil mehrfache Säume.

Bei weitergehender Schädigung wird zunächst die Strömung völlig eingestellt. Die Sphärosomen zeigen gute BMB. Später beginnen die Chondriosomen zu degenerieren. Sie kugeln sich in der mehrfach beschriebenen Weise (Perner und Pfefferkorn 1953, Biebl und Url 1958 u. a.) ab und bilden "Napfformen" und "Ringlein". Abb. 20 zeigt ein solches Stadium. Die Leukoplasten haben noch fast ihre normale Form. In der Mitte des Bildes sind zwei Sphärosomen als kleine schwarze Punkte zu sehen. Die alterierten Chondriosomen sind abgekugelt und zeigen die typische "Napfform".

Ein weiteres Zeichen der Schädigung ist die Bildung von kleinen Vakuolen im Plasma. Beginnende schaumig-vakuolige Degeneration zeigen die Abb. 5 und 13. Allerdings zeigt zu diesem Zeitpunkt das Plasma oft noch gute Strömung (vgl. dazu die Beobachtungen Perners und Pfefferkorns an Allium cepa l. c., S. 103). Auch Jarosch (1958) erwähnt, daß die vakuolige Degeneration oft schon gleich nach dem Ausquetschen der Chara-Zellen in den Plasmatropfen auftritt. Ein fortgeschrittenes Stadium der vakuoligen Degeneration zeigt Abb. 21. Die Plasmaströmung ist eingestellt. Hier sieht man auch gut die beginnende Degeneration der Leukoplasten. Die langen Fortsätze werden dabei rasch eingezogen und die ovalen Stromateile kugeln ab. Die einzelnen Stromakugeln können durch dünne Fäden verbunden bleiben oder aber sich auch voneinander lösen. Die

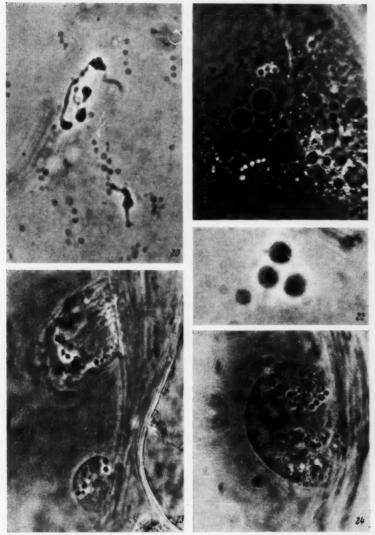


Abb. 20. Leukoplasten mit Granen und degenerierende Chondriosomen (Bildung von "Ringlein" und "Napfformen"). Positiver Phako.

Abb. 21. Fortgeschrittene Schädigung des Plasmas. Hochgradige Vakuolisation und abgekugelte Plastiden. Anoptralkontrast.

Abb. 22. Abgekugelte Plastidenteilstücke mit Granen, Positiver Phako.

Abb. 23 und 24. An der Zellwand hängende Plasmaballen, die nach Aufreißen des Wandbelages entstanden sind. Die abgekugelten Leukoplasten sind gut zu sehen.

Granen sind dann gut sichtbar (Abb. 22). Ein ähnliches Verhalten der Leukoplasten von *Allium* beschreibt Perner (1954, S. 28).

Ausdrückliche Erwähnung verdient der Umstand, daß bei den Symphoricarpus-Zellen die Stadien des Absterbens nicht so typisch und gleichmäßig aufeinanderfolgen wie z. B. bei Allium (Biebl und Url 1958). So konnte in einigen Fällen schwache Plasmaströmung noch zu einem Zeitpunkt beobachtet werden, als die Chondriosomen schon abgekugelt waren und sogar schon "Ringlein" zu bilden begannen. Auch bei Symphoricarpus sind aber die Sphärosomen die weitaus resistentesten Inhaltskörper des Plasmas. Sie sind auch noch in völlig koaguliertem Plasma erhalten und

zeigen ihren typischen Phasenkontrast.

Eine bemerkenswerte Nekrose zeigen die Zellen nach Alteration durch Druck (leichtes Drücken mit dem Objektiv oder bei älteren Präparaten durch Druck des Deckglases infolge Verdunstens der Flüssigkeit). Druck auf die Zellen bewirkt zunächst sofortiges Aufhören der Plasmaströmung. Die Chondriosomen kugeln sich ab, ebenso die Leukoplasten, Die Leukoplasten beginnen nach kurzer Zeit zu verquellen und zu zerfließen. Es zeigen sich also wieder ähnliche Bilder wie bei Allium (vgl. Perner 1954, S. 28). Vielleicht infolge leichter Einfaltung der Zellwand reißt oft der Plasmawandbelag an einer Stelle auf, der Riß vergrößert sich sehr rasch und das Plasma wird zum größten Teil wie eine Welle vor den Rändern des Loches hergeschoben. Ein kleiner Teil bleibt an der Wand hängen und bildet perlschnurartige Artefakte, wie sie Perner (1953, S. 465) für homogenisiertes Allium-Plasma beschreibt. Besonders auffallend ist, daß das von der Rißstelle weggeschobene Plasma sich zu großen, in den Zellsaftraum ragenden Ballen sammelt, in welchen auch Vakuolen enthalten sein können (Abb. 23, 24). In diesen befinden sich die Sphärosomen in guter BMB, die Chondriosomen sind abgekugelt und schlecht zu erkennen. Dagegen sieht man sehr gut die fragmentierten Leukoplasten. Jedenfalls bleiben in diesen Plasmaballen Chondriosomen und Leukoplasten — wenn auch verändert und abgekugelt - länger erhalten als in gewöhnlich absterbendem Plasma. Es zeigt sich vielleicht eine gewisse Parallele zu den aus Chara-Zellen ausgepreßten Plasmatropfen, die ja auch längere Zeit im Präparat überdauern (vgl. Jarosch 1955, 1956 b).

### Zusammenfassung

Das Ergebnis phasenoptischer Untersuchungen an den Plasmaorganellen der Fruchtfleischzellen von Symphoricarpus racemosus Hooker wird mitgeteilt. Die Vor- und Nachteile der Zellen als Objekt für die Phasenkontrastmikroskopie werden erörtert. Auf die besondere Eignung der Zellen für Untersuchungen im Anoptralkontrast sowie auf die Vorteile dieses Verfahrens wird hingewiesen. Das Bild der nach mechanischer Schädigung alterierten und absterbenden Zelle und die Nekrosen der Organellen werden beschrieben.

Neben den Kernen sind die multigranulären, extrem somatisierten Leukoplasten mit ihren bizarren Formen und ihrer starken Amöboidie die auffälligsten Plasmaorganellen (Abb. 5, 4, 5, 11, 13, 16, 17, 20). Die Chondriosomen, meist eiförmig bis gestreckt-oval, sind ähnlich denen von Allium, nur etwas kleiner (Abb. 4, 8, 9, 13). Auch die Sphärosomen, die sehr verschiedene Größe besitzen, sind kleiner als bei Allium. Selbst die größten zeigen im Phako noch keinen Hof, sondern sind homogen konstrastiert (Abb. 4, 5, 9, 21). Außerdem finden sich im Plasma noch eigenartige kreisrunde Gebilde mit homogenem Phako, die größer sind als die Chondriosomen (Abb. 8, 9, 18), und große runde Lipoidtropfen mit starker Lichtbrechung (Abb. 2). Im Dunkelfeld nachweisbare, an der Grenze der Sichtbarkeit liegende Partikel mit Funkelphänomen sind vielleicht dem Golgisystem zuzurechnen.

Nach mechanischer Schädigung zeigen das alterierte und absterbende Plasma und die Organellen Bilder, wie sie auch von anderen Zellen bekannt sind. Die Sistierung der Strömung folgt eine Vakuolisation des Plasmas und ein Abkugeln der Chondriosomen und Leukoplasten (Abb. 20—24). Eine bemerkenswerte Nekrose zeigen manchmal Zellen, deren Plasmawandbelag durch Druck zum Aufreißen gebracht wird. Es sammelt sich dann ein Teil des Plasmas zu größeren Kugeln, die an der Zellwand hängenbleiben, in ihnen bleiben die Organellen, zumal die Leukoplasten, allerdings abgekugelt, längere Zeit erhalten (Abb. 23, 24).

#### Literatur

- Biebl, R., und H. Germ, 1950: Praktikum der Pflanzenanatomie. Springer-Verlag, Wien.
- und W. Url, 1958: UV-Strahlenwirkungen auf Zellen von Allium cepa, besonders deren Chondriosomen und Plastiden. Protoplasma 49, 329.
- Eisenhut, L., 1958: Zur Darstellung der menschlichen Samenfäden im nativen Präparat. Mikroskopie 13, 255.
- Gabler, F., 1955: Positiver oder negativer Phasenkontrast? Mikroskopie 10, 119.
   Höfler, K., und W. Url, 1958: Das Verhalten der Chondriosomen bei Kappenplasmolyse. Protoplasma 49, 507.
- Janchen, E., 1958: Catalogus Florae Austriae I/Heft 3.
- Jarosch, R., 1955: Untersuchungen über Plasmaströmung. Dissertation Universität Wien.
- 1956 a: Die Impulsrichtungsänderungen bei der Induktion der Protoplasmaströmung. Protoplasma 47, 478.
- 1956 b: Plasmaströmung und Chloroplastenrotation bei Characeen. Phyton (Argentinien) 6, 87.
- 1958: Die Protoplasmafibrillen der Characeen. Protoplasma 50, 93.
- Kraus, G., 1949: Morphologisch-anatomische Untersuchung der entwicklungsbedingten Veränderungen an Achse, Blatt und Fruchtknoten bei einigen Beerenfrüchten. Österr. bot. Z. 96, 325.
- Perner, E., 1952: Über die Veränderungen der Struktur und des Chemismus der Zelleinschlüsse bei der Homogenisation lebender Gebilde. Ber. dtsch. bot. Ges. 65, 255.
- 1953: Die Sphärosomen (Mikrosomen) pflanzlicher Zellen. Protoplasma 42, 457.
- 1954: Zum mikroskopischen Nachweis des "Primärgranums" in den Leukoplasten. Ber. dtsch. bot. Ges. 67, 26.

Perner, E., 1958: Elektromikroskopische Untersuchungen zur Cytomorphologie des sogenannten "Golgisystems" in Wurzelzellen verschiedener Angiospermen. Protoplasma 49, 407.

 und M. Losada-Villasante, 1956: Die Zellorganelle der Wurzelhaare von Trianea bogotensis. Protoplasma 46, 579.

und G. Pfefferkorn, 1953: Pflanzliche Chondriosomen im Licht- und Elektronenmikroskop. Flora 140, 98.

Rind, H. J., 1958: Atlas der Phasenkontrasthämatologie. Akademie-Verlag, Berlin. Schüller, E., 1955: Neue Möglichkeiten zur Darstellung der Vitalstruktur der Zelle. Mikroskopie 10, 335.

Sitte, P., 1958: Die Ultrastruktur von Wurzelmeristemzellen der Erbse (Pisum satioum). Protoplasma 49, 447.

Steffen, K., 1955: Chondriosomen und Mikrosomen (Sphärosomen). Handbuch der Pflanzenphysiologie, Band I, 574.

1947: Die Anwendung des Phasenkontrast-Verfahrens zum Studium der Pflanzenzelle. Z. Naturforsch. 2 b, 146.

Strugger, S., 1931: Zur Analyse der Vitalfärbung pflanzlicher Zellen mit Erythrosin. Ber. dtsch. bot. Ges. 49, 453.

 1949: Praktikum der Zell- und Gewebephysiologie der Pflanze. 2. Aufl. Springer-Verlag, Berlin-Göttingen-Heidelberg.

- 1950: Über den Bau der Plastiden und Chloroplasten, Naturwiss. 7. 166.

- 1951: Die Strukturordnung im Chloroplasten. Ber. dtsch. bot. Ges. 64, 69.

 1954 a: Der fluoreszenzmikroskopische Nachweis des primären Granums in den Proplastiden. Naturwiss. 41, 286.

 1954 b: Die Proplastiden in den jungen Blättern von Agapanthus umbellatus L'Herit. Protoplasma 45, 120.

- 1954 c: Über die Struktur der Proplastiden. Ber, dtsch. bot. Ges. 66, 439.

 1957: Schraubig gewundene Fäden als sublichtmikroskopische Strukturelemente des Cytoplasmas. Ber. dtsch. bot. Ges. 70, 91.

 und E. Perner, 1956: Beobachtungen zur Frage der ontogenetischen Entwicklung des somatischen Chloroplasten. Protoplasma 46, 712.

Wilska, A., 1953: A new method of light microscopy. Nature 171, 353 and 698. — 1954: Observations with the anoptral microscope. Mikroskopie 9, 1.

# Das Bild des Endoplasmatischen Reticulums von Planaria alpina in Abhängigkeit vom pH-Wert des Fixierungsmittels (I)

Von

#### Jörg Klima

Aus der Medizinischen Klinik der Tierärztlichen Hochschule Wien (Vorst. Prof. Dr. E. Gratzl) Elektronenmikroskopisches Laboratorium

(Eingegangen am 11. März 1959)

Mit 10 Textabbildungen

# **Einleitung**

Die elektronenmikroskopische Fixierung von Zellen in situ — lange angestrebt — hat nach Einführung folgender drei Verfahren sehr rasch eine fast unübersehbare Fülle von Bildern und Material erbracht.

1. Möglichst schonende Fixierung und Nachbehandlung, die auch eine gute Kontrastierung ergeben. Die meisten der heute verwendeten Fixierungsmittel sind gepufferte Osmiumtetroxyd- und Kaliumpermanganatlösungen oder chromhältige Gemische (Palade 1952a, b, 1954, Sjöstrand 1954, Dalton 1955, Luft 1956).

2. Einbettung in Kunststoffe — meist Methacrylat — und Betrachten des Schnittes ohne Herauslösen des Kunststoffes (Newman et al. 1949, Baud 1949).

3. Beim Schneiden genügend kleiner Vorschub des Präparates, das pro Schnitt einmal über eine Glas-, Metall- oder Diamantmesserkante geführt wird. Der Schnitt schwimmt auf einer Flüssigkeit ab (Literatur siehe bei H. Sitte 1955).

Durch verschiedene Untersuchungen sind wir über Veränderungen, die durch 2 und 3 im elektronenmikroskopischen Bild als Kunstprodukt auftreten können, gut unterrichtet und man kann sie heute weitgehend vermeiden (Porter und Blum 1953, Borysko 1956, Peach y 1958, Satir und Peach y 1958). Dagegen ist über den Einfluß der Fixierung auf die Ultrastruktur wenig Sicheres bekannt. Vorliegende Arbeit soll einen Beitrag

zur Frage nach der Abhängigkeit des elektronenmikroskopischen Bildes vom pH-Wert der Fixierungsflüssigkeit liefern.

Das Endoplas matische Reticulum. Porter, Claude und Fullam beschrieben 1945 in der Grundsubstanz von Zellen, die in Gewebekultur wuchsen, ein spitzenähnliches Netzwerk. Spätere Arbeiten zeigten, daßt es ein wesentlicher Bestandteil jeder Zelle ist. Im Jahre 1948 wurde der Name Endoplasmatisches Reticulum (ER) vorgeschlagen, der sich inzwischen in der amerikanischen Literatur völlig eingebürgert hat.

Palade (1956b) betont in einem zusammenfassenden Artikel über das ER dessen Vorkommen in allen bisher untersuchten Zellen, mit Ausnahme reifer Erythrozyten, und die unterschiedliche — aber für die einzelnen Zelltypen spezifische — Ausbildung. Zuletzt schreibt er: "In summary, it appears that the endoplasmic reticulum is a continuous network of membrane-bound cavities permeating the entire cytoplasm from the cell membrane to the nucleus. Within this network, there are a number of local differentiations some of them clearly established, others to be confirmed by further observations. The system is apparently in continuity with the cell membrane, at least intermittently, and extends down to the nucleus which its surrounds with a discontinuous, tridimensional moat." (Sperrungen vom Ref.)

Entsprechend dieser Vorstellung teilt die Membran des ER das Cytoplasma in zwei Hauptphasen, die mit einer sehr großen Oberfläche einander durchdringen. Palade (1956) wählt für diese zwei Phasen keine Bezeichnungen. Um die späteren Beobachtungen leichter beschreiben zu können, möchte ich dafür die Bezeichnung intrazisternale Phase bzw. extrazisternale Phase vorschlagen. Zisternen nennt Palade die flachen Säcke des "rauhen", d. h. meiosomenbesetzten ER. Palade (1956) spricht auch von intrazisternaler Granula bei der Pancreas der weißen Maus, da bei bestimmten funktionellen Stadien innerhalb der außen mit Meiosomen (Höfler 1957, P. Sitte 1958) besetzten Membranen dunkle kugelige Körnchen auftreten. Da aber diese Phase mit der entsprechenden des glatten ER und dem perinuclearen Raum 1 in Verbindung steht, scheint es mir berechtigt, "intrazisternal" zur Bezeichnung der gesamten Phase zu benützen. Die von dieser Phase durch die Membran des ER getrennte zweite, die die Meiosomen und die Mitochondrien enthält, ist das Grundcytoplasma im engeren Sinne oder die extrazisternale Phase.

Diese Vorstellung über den Aufbau des ER wird noch nicht von allen Autoren geteilt. Besonders Sjöstrand und sein Kreis, aber auch Weiß (1953, 1954) und Watenabe (1954) deuten die im Schnitt gesondert aufscheinenden Membranen nicht als zu einem einheitlichen System gehörig, sondern sehen in ihnen voneinander isolierte Blätter oder Schläuche. Sjöstrand (1956) spricht je nach Art der Ausbildung von Alpha-, Betaund Gamma-Cytomembranen.

<sup>&</sup>lt;sup>1</sup> Palade rechnet auch den Golgiapparat zu den Differenzierungen des ER. Diese Auffassung wird nicht von allen Autoren, die der Konzeption des ER zustimmen, geteilt.

Noch ausdrücklicher als Palade betont Bennett (1956), der "Membranenfluß" und Bläschenbildung als weitverbreitetes Mittel für aktive Stofftransporte in der Zelle ansieht, den raschen Wechsel der jeweiligen Ausbildung des ER, wobei freilich die Gesamtverteilung wenig geändert erscheint und so ein statisches Bild vorgetäuscht wird. Fawcet und Susumu Ito (1958) konnten kürzlich das ER in Zellen des Keimepithels von Meerschweinchenhoden mit dem Phasenkontrastmikroskop nachweisen. Bei Stehenlassen der überlebenden Zellen konnten nun sehr auffallende Änderungen des ER sowohl im Phasenkontrast als auch im Elektronenmikroskop beobachtet werden, wobei die Beobachtungen gut übereinstimmen. Die leichte Veränderlichkeit des ER, sowohl in vivo als auch im Experiment, ließ erwarten, daß auch unterschiedliche Fixierungen von Einfluß auf sein Aussehen sind.

Aus Untersuchungen über die Feinstruktur von Planaria alpina Dana ergab sich die vorliegende Arbeit. Innerhalb mehrerer Fixierungsreihen wurde auch eine mit nach pH-Werten abgestufte gepufferte Osmiumtetroxyd-Lösung nach Palade (1952a) verwendet. Postmortale Veränderungen können bei Planarien nicht auftreten, da sie durch Zerschneiden nicht getötet werden. Frisch eingefangene Tiere können je nach Zeitpunkt der letzten Nahrungsaufnahme (Hauser 1956) und Reifezustand der Geschlechtszellen unterschiedliche Formen der Zellstrukturen zeigen. Durch etwa 14 Tage langes Hungern läßt sich ein weitgehend einheitlicher Zustand erzielen.

Die osmotische Konzentration der Tiere war nicht bekannt und ist schwierig zu bestimmen. Eigene Versuche, sie mit Hilfe von Überlebenszeiten und Gewichtsveränderungen in nach Molarität abgestuften Medien von Elektrolyten und Anelektrolyten zu bestimmen, ergaben, daß die Molarität etwa bei 0,07 M oder 0,15 M liegt; der niedrigere Wert erscheint der wahrscheinlichere. Die Gefrierpunktserniedrigung der Fixierungsgemische konnte leider nicht bestimmt werden. Sie war bei verschiedenen pH-Werten nicht gleich. Ihre Schwankung lag sicher innerhalb von -0,150 bis -0,050. Die verwendeten Fixierungsgemische sind äquivalent, Lösungen von Anelektrolyten mit einer 0,1 bis 0,3 M Konzentration. Gleichgültig, welche der angegebenen Werte man koppelt, in keinem Fall kann das Fixierungsgemisch gegenüber den Tieren als stark hypotonisch bezeichnet werden. Da zu Beginn der Arbeit ein deutlicher Einfluß des pH-Wertes auf das Aussehen der Zellstrukturen unbestritten war (Palade 1952a) und eine Abhängigkeit von der Art des Puffers nicht gefunden wurde, schien es zulässig. aufgefundene Unterschiede in dieser Reihe der Wirkung der Wasserstoffionenkonzentration zuzuschreiben.

#### **Material und Methode**

Mehrere etwa 10 mm lange Exemplare von *Planaria alpina* wurden im Oktober 1954 im Ahrntal bei Innsbruck in einem Quellbach gesammelt und in Innsbrucker Brunnenwasser gehalten. Vor der Fixierung hungerten die Tiere 14 Tage. Fixiert wurde mit gepuffertem Osmiumtetroxyd (Puffer

418

nach Palade, 1952, auf pH 5,0, 6,0, 7,2 und 8,0 eingestellt, mit 2%igem Osmiumtetroxyd 1:1 verdünnt). Die Fixierung erfolgte 4 Stunden lang bei Zimmertemperatur, die anschließende Wässerung mit Aqua dest. 1 Stunde lang, danach langsame Entwässerung mit Äthylalkohol. Eingebettet wurde in einem Methacrylatgemisch (Butyl: Methyl 95:5); dessen Polymerisation erfolgte durch Zusatz von 1% Dichlorbenzolperoxyd und Haltung bei 42° C während 16 Stunden in Gelatinekapseln der Größe 0. Geschnitten wurde mit Glasmessern auf dem Ultramikrotom der Reichert-Werke nach H. Sitte (1955, 1956). Die Interferenzfarbe der Schnitte war Silber bis Goldbraun, ihre Dicke 600 bis 1300 Å (P. Sitte 1957, Bachmann und Sitte 1959). Die Schnitte wurden nach einem von H. Sitte (1956, 1957) entwickelten Verfahren gezielt präpariert, ein Teil davon mit Phosphorwolframsäure nachkontrastiert. Die Beobachtung erfolgt mit dem Elmiskop I.

# Beobachtungen

Bei Planaria alpina Dana finden sich zwei Zelltypen, die sehr reichlich "rauhes", d. h. meiosomenbesetztes ER enthalten, und zwar in einer Anordnung, die an die von den Pankreaszellen der weißen Maus beschriebene (Sjöstrand und Hanzon 1954, Palade und Siekevitz 1956a) erinnert. Es sind dies erstens jene Zellen, die quergestreifte Granula produzieren, den einzelligen Körperdrüsen der Turbellarien angehören und meist knapp unter dem Hautmuskelschlauch liegen. Zweitens die Dotterstockzellen, die zu kleinen Gruppen vereinigt als Dotterstockfollikel tiefer im Körperparenchym liegen. Abb. 1 zeigt die Verteilung dieser Zellen im Körper in Übersicht. Bei starker Vergrößerung (elektronenoptisch 20.000: 1) können diese Zellen selbst an einem kleinen Ausschnitt, dank der verschiedenen Elektronendichte einander homologer Zellpartien, unterschieden werden. Die Körperdrüsenzellen mit guergestreiften Granula (Abb. 2, 4, 6, 8) besitzen eine elektronendichte intrazisternale Phase, während in den Dotterstockzellen die intrazisternale Phase elektronenlicht ist (Abb. 3, 5, 7, 9, 10). Ein Versuch, durch Nachkontrastieren mit Phosphorwolframsäure in der intrazisternalen Phase der Körperdrüsenzellen feinere Einzelheiten darzustellen, brachte keine wesentlichen Ergebnisse. Die feinen Fäden (Abb. 4) sind wahrscheinlich Ausflockungen einer ursprünglich feiner dispersen Sub-

Die Abbildungen 2, 3, 4 und 5 zeigen das Bild des ER nach Fixierung bei pH 7,2. Intra- und extrazisternale Phase sind zu ungefähr gleichen Teilen vorhanden, Die Entfernung der Membranen voneinander sind etwa gleich groß, unabhängig davon, ob innerhalb der intra- oder der extrazisternalen Phase gemessen wurde; der Quotient der Phasen muß daher etwa um 1 liegen (siehe Tab. 1).

Die Abbildungen 6, 7 und 10 zeigen das Bild des ER nach Fixierung in schwach sauren Medien (pH 6,0; 5,0). Die intrazisternale Phase ist deutlich vergrößert. Der Erweiterung der Schnittprofile muß eine Volumszunahme entsprechen, die bei den Dotterstockzellen deutlicher ausgeprägt ist als bei den Drüsenzellen der quergestreiften Granula. Ein pH-Wert von 5 wirkt

in dieser Hinsicht nicht wesentlich stärker als ein solcher von 6,0. Umgekehrt bewirkt eine Abweichung nach der alkalischen Seite eine Volumszunahme der extrazisternalen Phase, die dann auch elektronenlichter erscheint (Abb. 8, 9).

Die Volumszunahme läßt sich nur schwer messen, die Verschiebung des Quotienten aber leicht feststellen. Die absoluten Werte der Dicke der Pha-



Abb. 1. Übersichtsbild des Körperinneren von Planaria alpina Dana. Schnittlage schräg zu den Körperachsen, zahlreiche amöboide Darmzellen (Ad) mit Granula und Fetttropfen (Ft), diese sind gechattert (zeigen Dickenschwankungen senkrecht zur Messerrichtung). Im Parenchym eingelagert Dotterstockzellen (Vz), sie bilden wenigzellige Follikel. Das Endoplasmatische Reticulum (ER) ist randlich stark ausgeprägt und umhüllt schalenförmig das elektronenlichte Innere der Zelle. Bei den Drüsenzellen (Dr) füllt das ER die gesamte Zelle mit Ausnahme der polwärts gelegenen quergestreiten Granula. An dieser Zelle ist der Pol nicht getroffen. Auch scheint der Abstand der Zisternenmembranen voneinander größer zu sein. Vereinzelt sind auch die Anschnitte der Kerne (N) in den Zellen zu sehen. Fixierung bei pH 7,2. Elektronenoptische Vergr. 1050:1. Gesamtvergr. 2400:1.

sen sind von der Schnittlage abhängig, der Quotient jedoch nur von der Anderung des Krümmungsradius benachbarter Zisternen. Daher ist es am günstigsten, den Quotienten zweier benachbarter Schnittfiguren zu bestimmen und aus mehreren solchen Messungen den Durchschnitt zu bilden. In der Schnittebene werden die Abstände der Membranmitten senkrecht auf ihre Tangente gemessen. Der Quotient ist der Abstand innerhalb der intrazisternalen Phase, gebrochen durch den Abstand innerhalb der extrazisternalen Phase. Tab. 1 gibt eine Übersicht über gemessene Werte.

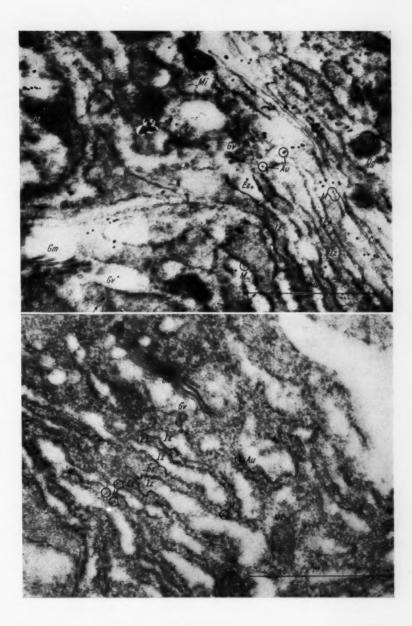
Tabelle 1.

Maßgröße		Dotterstockzellen		Drüsenzellen				
Aus je 10 Messunge auf einer Platte ermi		Durchschn.	DQ	Durchschn.	DQ			
Abstände der Membranen, gemessen innerhalb der intrazistern. Phase, fixier		690 Å	-	1100 Å	****			
bei pH 7,2	Zelle 2	701 Å		878 Å	_			
0 11	Zelle 1	1,25	0,204	1,01	0,032			
Quotient bei pH 7,2	Zelle 2	1,13	0,103	1,07	0,018			
Quotient bei pH 6,0		2,18	0,204	2,19	0,319			
Quotient bei pH 5,0		2,22	0,462	_	_			
Quotient bei pH 8,0		0,825	0,033	0,500	0,052			

Durchschn. = Durchschnitt (arithmetisches Mittel) DQ = Durchschnittsquadrat. Zur Ermittlung des Quotienten siehe Text S. 419 ff.

Abb. 2. Ausschnitt aus zwei benachbarten Drüsenzellen der quergestreiften Granula. Die intrazisternale Phase (Iz) — grau — ist elektronendichter als die extrazisternale (Ez) — weiß. Der perinucleare Raum (Pn) gehört, wie man an Elektronendichte und Meiosomenbesatz erkennen kann, der intrazisternalen Phase zu. Bei dem Pfeil erkennt man die Anordnung der Meiosomen (M), da die zugehörige Membran flach geschnitten wurde. In der Nähe des Kernes Golgi-Apparate mit Golgi-Membranen (Gm) und Golgi-Bläschen (Gv). Die Mitochondrien (Mi) liegen in der extrazisternalen Phase, Einzelne helle Stellen in der Abbildung sind Löcher im Trägerfilm. N = Zellkern, Nm = Kernmembran, Qg = quergestreifte Granula, Au = Goldsolpartikel als Hilfe zum Scharfstellen aufgebracht. Fixierung bei pH 7,2. Elektronenoptische Vergr. 19.700:1. Gesamtvergr. 44.500:1.

Abb. 3. Ausschnitt aus einer Dotterstockzelle desselben Schnittes. Elektronenlichte intrazisternale Phase (Iz). Intra- und extrazisternale (Ez) Phase etwa zu gleichen Anteilen vertreten, Quotient der intra- durch die extrazisternalen Abstände der Membranen 1,25. Golgibläschen (Gv) und Mitochondrien (Mi) nur innerhalb der extrazisternalen Phase, d. h. im Grundeytoplasma. Gm = Golgimembranen, M = Meiosomen, Au = Goldsolpartikel. Fixierung bei pH 7,2. Elektronenoptische Vergr. 19.700: 1. Gesamtvergr. 44.500: 1.



Protoplasma, Bd. LI/3

422 I. Klima

Die beobachteten Volumszunahmen können nun aus den schon eingangs erwähnten Gründen nicht auf osmotische Schwellungsvorgänge zurückgeführt werden. Vielmehr müssen Quellungs- und Entquellungsvorgänge zu ihrer Erklärung herangezogen werden. Wahrscheinlich ist dabei die Wasserstoffionenkonzentration der entscheidende Faktor und nicht das wechselnde Verhältnis von Natrium- zu Chlorionen. Bemerkenswert ist übrigens das gleichsinnige Verhalten des ER bei sehr verschiedenen Drüsenzellen. Die Beobachtungen des ER an anderen Zelltypen der Planaria alpina weisen darauf hin, daß es sich in allen gleichsinnig verhält. In der Fortsetzung der Arbeit soll diese Änderung quantitativ und der Anteil der einzelnen Faktoren genauer erfaßt werden.

# Besprechung

Bezüglich der Literatur über die Wirkung des pH-Wertes des Fixierungsmittels ergab eine Auswertung der in drei Zeitschriften (J. biophys. biochem. Cytol.; Exper. Cell Res. und J. ultrastruct. Res.) veröffentlichten Arbeiten, daß der pH-Wert des Fixierungsmediums zwischen 6,1 und 9,0 eingestellt wurde; meist wurde der von Palade (1952a) vorgeschlagene Michaelis-Puffer verwendet. Der Großteil der Arbeiten (siehe Tab. 2) verwandte nur eine pH-Stufe. Auch wurde die Wahl einer bestimmten pH-Stufe, sofern sie von den von Palade (1952a, b, 1954) vorgeschlagenen abwichen, meist nicht begründet. Diese Arbeiten werden hier weiterhin nicht berücksichtigt, dagegen sollen die wenigen ausgedehnteren Fixierungsstudien eingehend besprochen werden 2.

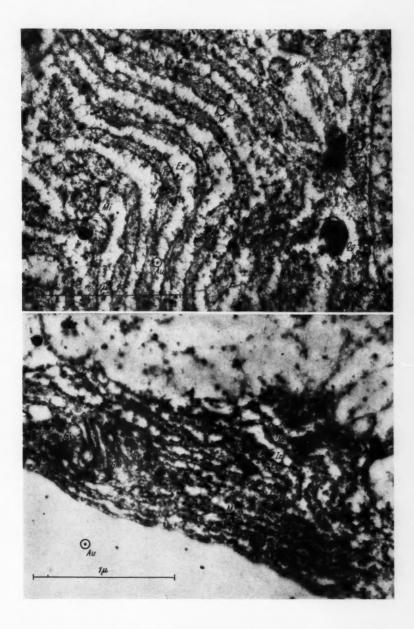
Palade (1952a) benützte bei seiner ersten grundlegenden Fixierungsstudie als Standard die Erhaltung von Gewebekulturzellen nach Fixierung durch Osmiumtetroxyddämpfe im Substrat. Diese Methode war von Por-

<sup>&</sup>lt;sup>2</sup> Auf Studien an Bakterien und Bakteriophagen wird wegen ihrer stark abweichenden Organisation nicht eingegangen.

Abb. 4. Ausschnitt aus einer Drüsenzelle, die quergestreifte Granula produziert. Rechts anschließend benachbarte Zelle anderer Funktion. Hier ist die extrazisternale Phase (Ez), d. h. das Grundcytoplasma, elektronenlicht. Schnitt mit Phosphorwolframsäure kontrastiert. Die vorher einförmige elektronendichte infrazisternale Phase (Iz) weist nun zahlreiche feine elektronendichte Fäden und Körnchen auf. Die quergestreifte Granula (Qg) wird in der extrazisternalen Phase (Ez) gebildet. Bei Pfeil eine flacher geschnittene Stelle, an der man den ziemlich regelmäßigen Besatz der Membran mit Meiosomen (M) sehen kann. Cm = Zellgrenze, Mi = Mitochondrien, Au = Goldsolpartikel. Fixierung bei pH 7,2. Elektronenoptische Vergr. 19.700: 1. Gesamtvergr. 44.500: 1.

Abb. 5. Ausschnitt aus einer Dotterstockzelle desselben Schnittes. Trotz Nachkontrastieren mit Phosphorwolframsäure keinerlei Kontrasterhöhung der intrazisternalen Phase (Iz). Im Schnitt ein Golgifeld mit zentralgelegenen Golgimembranen und randlichen Golgibläschen (Gv.) Ez = extrazisternale Phase, M = Meiosomen, Au = Goldsolpartikel. Fixierung bei pH 7,2. Elektronenoptische Vergr. 19.700:1.

Gesamtvergr. 44,500:1.



ter und Kallmann (1953) als die schonendste für Gewebekulturzellen empfohlen worden. Dieser Standard nahm aber in gewissem Maß die Ergebnisse der Untersuchung insofern voraus, als das Substrat eine gepufferte äquilibrierte Salzlösung ist. Palades Studie erbrachte folgende wesentliche Ergebnisse.

Tabelle 2.

Benützter pH-Bereich	Autor	Objekt
8.6	Pappas et al. 1958, JBBC 4, 485	Amoeba, Protozoa
8,0—9,0 Formol dann 7,4 OsO <sub>4</sub>	Ehrlich 1958, ECR 15, 465	Saintpaulia, Pollen, Diko- tylae
8.4-6.8	Randall et al. 1958, JBBC 4, 807	Stentor, Protozoa
8,3—8,1	Rebhun 1957, JBBC 3, 510	Otala, Spermatiden, Mol- lusca
8,3-7,8	Rebhun 1957, JBBC 2, 93, 159	Otala, Oocyten, Mollusca
8,0	Wassermann et al. 1956, JBBC 2, 97	Hühnerembryo, Binde- gewebe
8,0 nach- folgend 7,3	Rouiller et al. 1956, ECR 11, 527	Peritriche Ciliaten
7,9	Rouiller et al. 1957, JUR 1, 1	Trichodinopsis (Protozoa)
7.8	Porter et al. 1957, JBBC 3, 269	Amblystoma, Muskulatur
7.8	Cohen 1957, JBBC 3, 859	Amoeba. Protozoa
7.8—7.6	Ross et al. 1058, JBBC 4, 659	Homo, Nebenniere, Embryo
7.8-7.6	Fawcett et al. 1958, JBBC 4, 83	Chelidonia, Herzyorhof
7.8—7.6	Anderson et al, 1958, IBBC 4, 83	Rana, Ganglion
7.8-7.4	Burgos et al. 1955, JBBC 1, 278	Felis, Spermatiden
7.7	Burgos et al. 1956, JBBC 2, 223	Bufo, Spermatiden
7.6	Robertson 1955, IBBC 1, 271	Chamaeleo, Nervenfasern
7,6	Sotela et al. 1957, JBBC 3, 310	Aranea, Oocyten
7,6	Epstein 1957, JBBC 3, 56	Mus. Ascites-Sarkom 37
7,5-7,4	Palay 1956, JBBC 2, 193	Mus, Nervensystem
7,4	Edwards et al. 1958, JBBC 4, 251	Rhunchota, Muskel, Nerv
7,4	Ruthmann 1958, JBBC 4, 26?	Crustaceae, Spermatiden
7,4	P y n e 1958, ECR 14, 388	Leishmannia (Protozoa)
7,3	Lacy 1957, JBBC 3, 779	Mollusca, Epithel Ganglier
7,2	Sjöstrand et al. 1957, JUR 1, 187	Mus, Thyroidea
7,2	Hendler et al. 1957, JBBC 3, 325	Gallus, Eileiter
7,2	Pitelka 1956, JBBC 2, 425	Opalina (Protozoa)
7,0	Shoenberg 1958, JBBC 4, 609	Canicula, Uterus
6,4	Baud 1956, ECR 10, 566	Mus, Zentralnervensystem
6,1	Kellenberger et al. 1958, JBBC 4, 671	Escherichia, T 2-Phage

In die Tabelle wurden nur Arbeiten aus drei Zeitschriften aufgenommen: JBBC = J. Biophys. Biochem. Cytol.; ECR = Exper. Cell Res.; JUR = J. ultrastruct. Res. Nicht alle Arbeiten, die den benützten pH-Wert angeben, wurden angeführt, im Bereich von pH 7,2 bis 7,6 wurden zur Kürzung der Tabelle mehrere Arbeiten ausgelassen.

Erstens trat bei Osmiumtetroxydfixierung, bevor die Zellen durch Osmiumreduktion dunkeln und schließlich geschwärzt wurden, eine Versäuerung des Gewebes ein, die nicht auf autolytische Prozesse zurückzuführen ist, da sie durch Enzyminhibitoren nicht unterbunden oder geschwächt wurde.

Zweitens zeigte die Verwendung verschieden gepufferter Lösungen eine Abhängigkeit des Bildes der Zelle vom pH-Wert des Fixierungsmittels. Eine Abhängigkeit des Bildes von der Art des verwandten Puffers — erprobt wurde ein Veronalpuffer nach Michaelis mit Na- und Cl-Ionen und ein Phosphatpuffer mit K-Ionen — schien nicht gegeben. Saures pH (pH 5,0 oder niederer) zeigte deutlich eine artifizielle grobflockige Fällung des Nucleoplasmas und des Protoplasmas. Bei pH 7,0—7,4 lag das Minimum des Mitochondriendurchmessers.

Drittens konnte auch ein gepuffertes Fixierungsmedium die Versäuerung des Blockinneren nicht völlig hintanhalten. Es wies dadurch keinen guten Erhaltungszustand auf. Da auch die Blockoberfläche, deren Zellen ja verletzt sind, stets schlecht fixiert war, wurde nur die dazwischen liegende Zone des Blockes für die gewählten Bedingungen als repräsentativ angesehen.

Palade empfahl als wirksame Verbesserung der bis dahin üblichen Fixierungsmethoden, mit Michaelis-Puffer versetzte Osmiumtetroxydlösung auf einen Wert von pH 7,2—7,4 eingestellt zu verwenden. Leider war zum Zeitpunkt der Studie Palades die Schnittechnik noch nicht genügend entwickelt, um Schnitte hoher Auflösung zu erhalten. So konnten die Profile des ER in den Leberparenchymzellen noch nicht dargestellt werden; die in ihrer Anlage mustergültige Arbeit hat daher heute nur mehr beschränkte Beweiskraft.

Palade (1952b) untersuchte anschließend den Einfluß der Molarität; er glich durch NaCl- oder Saccharosezusatz den osmotischen Druck des Fixierungsmediums dem des Blutes an, konnte jedoch keine Verbesserung der Ergebnisse feststellen. Auch ein Ersatz des Veronalpuffers durch ein mit CO<sub>2</sub> gepuffertes Gemisch von Earle (Grundlage eines Substrates für Gewebezüchtung) brachte keine Verbesserung.

Auf dem Londoner Kongreß im Jahre 1954 berichtete Palade zusammenfassend über die Fixierung für die Elektronenmikroskopie. Danach können folgende Kriterien als Referenz für die genügende Güte der Fixierung gelten: 1. Keine lichtmikroskopisch beobachtbaren Veränderungen. 2. Polarisationsmikroskopische Befunde und Röntgenanalyse dürfen nicht den elektronenmikroskopischen Befunden widersprechen. 3. Die Außenmembranen der Zellen dürfen keine Rupturen zeigen; Einstülpungen bei der Formierung des ER und bei Pinocytose natürlich ausgenommen. An Hand dieses Standards bespricht er eigene und fremde Versuche, zu einer auch für die Elektronenmikroskopie befriedigenden Fixierung zu gelangen.

Als geeigneten pH-Wert für Säugergewebe empfahl er 7,3—7,5, für embryonales oder das sehr wasserreiche Gewebe niederer Tiere jedoch ein pH von 8,0—8,5. Der Molarität sprach er wenig Bedeutung zu. Ein sicherer Einfluß konnte nur in sehr extremen Medien (0,03 M und 0,88 M) festgestellt

werden. Mit Rhodin (1954) stimmt er darin überein, daß eine niedere Fixierungstemperatur vorzuziehen ist. Von wesentlichem Einfluß war die Dauer der Fixierung, da während der Fixierung eine Extraktion von Gewebematerial vor sich geht. So geht bei 48stündiger Dauer ein Großteil der Zellkomponenten in Lösung. Zuletzt kam er noch auf einige spezifische Ioneneffekte zu sprechen, Ammonium zerstörte die Membranen des ER in den Pankreaszellen der weißen Maus. Dagegen schienen Ca und Mg einen günstigen Einfluß auf den Erhaltungszustand des Gewebes zu haben.

Abschließend forderte Palade möglichst kontrollierte Fixierungsbedingungen; mit dieser Forderung stimmt er mit Sjöstrand überein, jedoch bestehen hinsichtlich der Wirksamkeit der einzelnen Faktoren Dif-

ferenzen. Er empfahl auch weitere Fixierungsstudien.

Sjöstrand und Rhodin prüften nochmals die Fragestellung von Palade. In ihren Bildern waren entsprechend der weiter fortgeschrittenen Schnittechnik wesentlich feinere Einzelheiten aufgelöst als in denen von Palade (1952a). Ausführlich sind die Ergebnisse dieser Fixierungsstudien in der Arbeit von Rhodin (1954) beschrieben.

Sein Untersuchungsobjekt war die proximale Tubuluszelle der weißen Maus. In dieser hochspezialisierten Zelle ist das ER — R hod in sprach von "intracellular cell membranes" — in Form zahlreicher einspringender Septen entwickelt. Sie bilden ein Wabenwerk, doch sind diese Waben nach R hod in apikal nur selten geschlossen. Die Mitochondrien liegen in den Waben, treten aber auch apikal derselben noch auf. Meiosomen sind nur spärlich vertreten. Zahlreiche kleine Bläschen kommen vor. Der Golgiapparat ist in typischer Ausbildung vorhanden.

Bei seinen Fixierungsstudien untersuchte Rhodin die Wirksamkeit

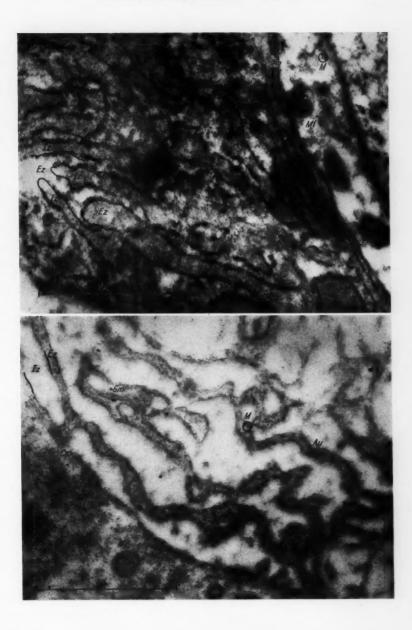
mehrerer Faktoren.

 Die postmortalen Veränderungen. Das Tier wurde durch Dekapitieren getötet, das Gewebe sofort oder nach 5, 15 bzw. 60 Minuten entnommen, der Tierkörper lag bei Raumtemperatur.

Bei Entnahme nach 5 Minuten waren noch keine merklichen Veränderungen festzustellen. Doch nach 15 Minuten waren schon die Mitochondrien geschwollen, ihre Innenstrukturen gestört. Auch im Plasma waren leichte Veränderungen eingetreten und nach 60 Minuten stärker ausgeprägt. Im Plasma waren die "intracellular cell membranes" zu granulären Strukturen

Abb. 6. Ausschnitt aus einer Drüsenzelle. Die intrazisternale Phase (Iz) ist gequollen. Die extrazisternale Phase (Ez) oft schwer zu erkennen. Quotient beträgt nun 2,19. Intrazisternale Phase trotz Quellung noch elektronendichter. Cm = Zell-grenze, M = Meiosomen, Mi = Mitochondrien. Fixierung bei pH 6,0. Elektronenoptische Vergr. 19.700:1, Gesamtvergr. 44.500:1.

Abb. 7. Ausschnitt aus einer Dotterstockzelle, links anschließend Zelle anderer Funktion. Die intrazisternale Phase (Iz) ist stark gequollen, das Grundcytoplasma (Ez) dazwischen weitgehend unverändert. Der Quotient beträgt hier 2,18. Cm= Zellgrenze, Gm= Golgimembrane, Gp= Golgibläschen, M= Meisomen, Mi= Mitochondrien, Au= Goldsolpartikel. Fixierung bei pH 6,0. Elektronenoptische Vergr. 19.700: 1, Gesamtvergr. 44.500: 1.



428 J. Klima

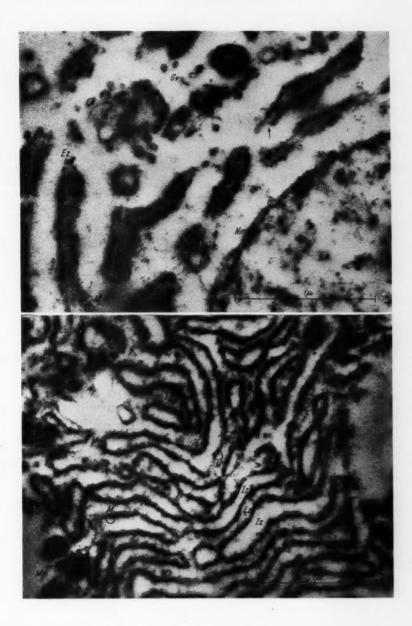
zerfallen. Die Veränderungen im Inneren eines optimal fixierten Blöckchens erinnern an die Bilder postmortaler Veränderungen, daher nimmt Rhodin an, daß auch sie durch postmortale Schäden, abhängig von der Schnelligkeit des Eindringens des Fixierungsmittels, verursacht sind. Doch wäre meines Erachtens noch zu prüfen, ob wirklich das Überleben einer Zelle im getöteten Tier, in situ belassen und im Inneren eines kleinen Blöckchens, in der Fixierungsflüssigkeit ruhenden, in gleicher Weise vor sich geht. Der Einfluß der Temperatur war gering, aber deutlich nachweisbar. Bei erhöhter Temperatur (48°C) kam es zu einer Schwellung der Mitochondrien. Der stark erhöhte Gehalt an reduzierten Osmiumverbindungen in Form kleiner Granula von 30-140 A Durchmesser erwies sich als sehr störend. Bei 37º C betrug der Durchmesser der Granula etwa 40 Å. Bei Temperaturen von 18 und 0°C war sie nicht mehr nachweisbar. Da das Grundplasma bei einer Fixierungstemperatur von 00 C regelmäßiger organisiert war als bei höheren Temperaturen, empfahl Rhodin eine Fixierungstemperatur von 00 C.

Den unterschiedlichen pH-Werten sprach er nur geringen Einfluß zu. Er wählte folgende vier pH-Werte: 4,5, 6,2, 7,2 und 7,9. Zwischen bei einem pH von 7,9 und einem solchen von 7,2 fixierten Zellen konnte kein gesicherter Unterschied festgestellt werden. Bei einem pH von 6,2 trat nur eine geringe Zunahme der Dicke der Doppelmembranen der Mitochondrien auf. Das Grundplasma ist etwas bläschenreicher, eine grobe Vakuolisierung und Ausflockung konnte aber nicht beobachtet werden. Bei einem pH von 4,5 waren die Veränderungen deutlicher ausgeprägt. Die inneren Doppelmembranen der Mitochondrien hatten sich noch mehr verbreitert. Die doppelte Außenmembran hatte sich gegenüber einer Fixierung bei pH 6,2 kaum mehr verbreitert, doch waren sie zerbrochen oder fehlten überhaupt. Die Bläschen des Grundcytoplasmas hatten sich vermehrt und vergrößert. Die Zellmembranen erschienen dicker, da sich ihre elektronenlichte Schicht im Schnitt verbreitert hatte. Eine Ausflockung des Grundcytoplasmas trat aber auch bei diesem pH-Wert nicht auf.

Hyper- und hypotonische Fixierung hatten einen geringen Einfluß auf die Größe der Mitochondrien, die entsprechend Schrumpfung oder Schwel-

Abb. 8. Ausschnitt aus einer Drüsenzelle. Die extrazisternale Phase (Ez), d. h. das Grundcytoplasma ist sehr stark gequollen und erscheint dadurch besonders elektronenlicht. Quotient 0,50, damit sind die Drüsenzellen gegenüber alkalischer Fixierung etwas empfindlicher als die Dotterstockzellen. Bei dem Pfeil ist der Übergang von "rauhem" — meiosomenbesetztem — ER in "glattes" ER zu erkennen. Perinuclearer Raum (Pn) ganz entquollen. Der Kern und die Kernmembran sind gut zu erkennen. Gv = Golgibläschen, Iz = Intrazisternale Phase, M = Meiosomen. Fixierung bei pH 8,0. Elektronenoptische Vergr. 19.700: 1. Gesamtvergr. 44,300: 1.

Abb. 9. Ausschnitt aus einer Dotterstockzelle. Die extrazisternale Phase (Ez) ist gequollen und elektronenlicht geworden, dadurch ist fürs erste oft schwer zu entscheiden, welcher Phase ein Detail angehört. Der Meiosomenbesatz (M) ermöglicht dies aber stets zuverlässig. Quotient 0.82. Bei Pfeil flach geschnittene Membran, die die Anordnung der Meiosomen erkennen läßt. Iz = intrazisternale Phase, Mi = Mitochondrien. Fixierung bei pH 8.0.



lung zeigten. Die im Versuch gewählten Werte für hypo- und hypertonische Fixierung (0,28 M bzw. 0,42 M) wichen jedoch vom Normalwert (0,34 M) zu geringfügig ab, um die Änderung der Mitochondriendurchmesser statistisch sichern zu können.

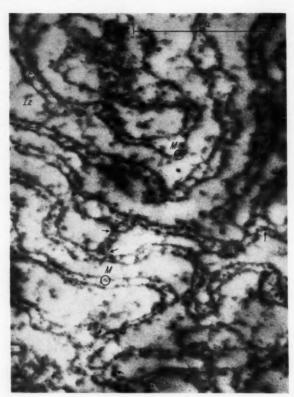


Abb. 10. Ausschnitt aus einer Dotterstockzelle, Dieses Blöckchen wurde bei einem pH von 5,0 fixiert, außer einem nicht signifikanten Anstieg des Quotienten auf 2,22 gegenüber einem Bild der bei pH 6,0 fixierten Zellen keine Anderung (siehe Abb. 7). Bei den Pfeilen Anastomosen des "rauhen" Endoplasmatischen Reticulums. Ez = extrazisternale Phase (Grundcytoplasma), Iz = intrazisternale Phase, M = Meiosomen. Fixierung bei pH 5,0. Elektronenoptische Vergr. 19.700:1. Gesamtvergr. 44.500:1.

Leider berücksichtigte Rhodin bei seiner Fixationsstudie das Verhalten des ER kaum. Ob die erwähnten Bläschen als solche des ER aufzufassen sind, scheint fraglich.

Zetterquist (1956) folgte bei seiner Fixierungsstudie dem Ansatz Rhodins. Sein Objekt war die Epithelzelle des Jejunum der weißen Maus. Die Schnitte der langgestreckten Zellen zeigen apikal viele Anschnitte von Microvillis. Sie werden von einigen langen Profilen des ER durchzogen, die reichlich mit Meiosomen besetzt sind. Zetter quist bezeichnete sie als Alpha-Cytomembranen. Auch zahlreiche freie Meiosomen sind im Cytoplasma vorhanden. Dazu kommen noch zahlreiche Bläschen. Zetter quist wies durch Reihenschnitte die Bläschennatur dieser Gebilde nach. Wahrscheinlich sind sie trotzdem dem ER zuzurechnen und erfüllen nach der Vorstellung von Bennett Transportfunktionen.

Als Fixierungstemperatur wählte Zetterquist einheitlich 1°C bis 2°C. Bei der Untersuchung der postmortalen Veränderungen blieben die Körper der dekapitierten Tiere bei dieser Temperatur liegen. Dieselben Schäden, die Rhodin fand, traten auf, jedoch verlief der Prozeß rascher. Ob dies auf die geänderten Bedingungen oder auf das andere Objekt zurückzuführen ist, kann nicht sicher entschieden werden; letzteres scheint

wahrscheinlicher.

Zetterquist wählte nur drei pH-Stufen. Da Rhodin bei einem pH von 7,9 noch keine Änderungen feststellen konnte, erprobte Zetterquist den alkalischeren Wert von pH 9,5! Dagegen stellte Zetterquist den saureren Wert des Fixierungsmediums mit pH 5,1 zwischen den beiden Werten der von Rhodin (1954) gewählten sauren Fixierungsmedien ein. Trotz der starken Verschiebung in den alkalischen Bereich konnte zwischen Fixierung bei einem pH von 9,5 und einem solchen von 7,2 kein Unterschied gesichert werden. Die bei einem pH von 5,1 fixierten Blöckchen zeigten deutliche Abweichungen von den bei pH 7,2 fixierten. Das Grundcytoplasma bot durch die Entstehung zahlreicher dichtgepackter kleiner Bläschen, die sich aber nur undeutlich voneinander abgrenzen ließen, ein stark verändertes Bild.

Zur Untersuchung des Einflusses hypo- und hypertonischer Fixierung wählte Zetterquist stärker vom Normalwert abweichende Stufen als Rhodin (1954). So fixierte Zetterquist bei 0,14 M, 0,34 M und 0,56 M zusätzlich noch in reiner 0,04 M Osmiumtetroxyd-Lösung. Trotz der Ausweitung des molaren Bereiches konnte keine gesicherte Änderung der Mitochondrien nachgewiesen werden, selbst dann nicht, wenn die Konzentration auf 0,04 M gesenkt wurde! Dagegen zeigte sich ein sehr deutlicher Einfluß auf das Grundcytoplasma. Bei hypotonischer Fixierung schien es weitgehend "leer", aber mit vielen vergrößerten Bläschen durchsetzt; der Unterschied ist signifikant. Die freien Meiosomen erschienen vermindert. Bei hypertonischer Fixierung waren die Bläschen in dieser Form kaum mehr nachzuweisen. Alle Strukturen waren enger gepackt und die freien Meiosomen schienen vermehrt. Bei Fixierung in 0,04 M Osmiumtetroxyd-Lösung waren nur mehr wenige Bläschen und Meiosomen nachzuweisen. Die Profile des meiosomenbesetzten ER schienen nach dem Bild zu fehlen.

Auch Zetterquist gab keine Anderungen des ER an. Sie schienen demnach nicht bedeutend zu sein.

Dalton (1955) fixierte mit Kaliumbichromat-Osmiumtetroxyd-Gemischen, gepuffert zwischen pH 5,6 und 7,6, gab aber die Auswirkung dieser Änderung nicht an.

Low und Freeman (1956) erprobten Chromchlorid, Kaliumbichromat und Chromsäure: Chromsäure, die sich als geeignetste der drei Verbindungen erwies, wurde allein und mit Formaldehyd bei verschiedenen pH-Werten geprüft; ein bemerkbarer Nutzen der Pufferung wurde nicht festgestellt. Die von ihnen empfohlene Mischung hat einen pH-Wert von 3.9. Es ist dies wohl der extremste Wert einer gepufferten Lösung zur Fixierung elektronenmikroskopischer Präparate, der jemals empfohlen wurde.

Luft (1956), der Kaliumpermanganat zur Fixierung für die Ultrahistologie einführte, prüfte die Wirkung der Temperatur und fand ebenfalls 00 C als sehr geeignet. Er pufferte das Kaliumpermanganat auf einen pH-Wert von 7,4-7,6, hat aber über den Einfluß geänderter pH-Werte keine Untersuchungen veröffentlicht.

Die bisher zitierten Versuche wurden an Zellen verschiedener Organe weißer Mäuse durchgeführt, die folgenden Ergebnisse stammen von gänzlich

anderen Objekten.

Sagar und Palade (1957) untersuchten Chlamydomonas. Sie variierten den pH-Wert des Fixierungsmediums zwischen 7,0 und 8,5 und fixierten sowohl bei 00 C als auch bei Zimmertemperatur verschieden lang, nämlich 2, 4 und 24 Stunden. Fixieren bei 00 C und kurze Zeit bei Raumtemperatur verhinderte stärkere Extraktion, doch waren die Membranen nicht genügend fixiert und zeigten oft Bruchstellen, Vierundzwanzigstündiges Fixieren bei Raumtemperatur erhielt besonders gut die Membranen. Ohne eingehende Diskussion bezeichneten sie den Wert von pH 8,5 für die Fixierung dieses Objektes als den günstigsten.

P. Sitte (1958) wählte als Untersuchungsobjekt Erbsenwurzelmeristem. Er betont schon einleitend, daß er keine Fixierung finden konnte, die

gleichzeitig alle Zellelemente gut erhält!

Als Fixierungsmittel benützte er Osmiumtetroxydgemische und Formaldehyd mit und ohne nachfolgende Osmiumtetroxydbehandlung. Zur Untersuchung der Wirkung des pH-Wertes variierte er den Wert des Michaelis-Puffers zwischen einem pH von 3.4 bis 8.0. Den Einfluß der Molarität untersuchte er mittels 0,04 M bis 4,0 M Lösungen von Anelektrolyten mit verschiedenem Molekulargewicht (Urea 60, Glycerin 102, Dextrose 180 und Saccharose 342) in 1%iger Osmiumtetroxydlösung, Außer diesen Fixierungsflüssigkeiten benützte er mit Pyridin auf ein pH von 7,2 gepuffertes Formaldehyd in 1,0 M Konzentration mit nachfolgender halb- bis zweistündiger Stabilisierung in 1%iger wäßriger Osmiumtetroxydlösung. Die Stabilisierung erwies sich als notwendig, da sonst bei der üblichen Plexiglaseinbettung sehr beträchtliche Borvsko-Schäden auftraten.

Für das Grundcytoplasma fand Sitte ungepufferte 1%ige Osmiumtetroxydlösung und mit Pyridin neutralisiertes Formalin als am besten geeignet. Zusatz anorganischer Puffer rief stets Plasma-Ausflockungen verschiedenen Ausmaßes hervor, besonders stark im sauren, aber auch im neu-

tralen (pH 7,2) Bereich.

Das mit Meiosomen besetzte ER war bei 1%iger Osmiumtetroxydlösung stets gequollen; ein Zusatz von Anelektrolyten bis in den hypertonischen Bereich änderte daran nichts. Dagegen verhinderte schon ein hypotonischer Zusatz eines anorganischen Puffers die Quellung. Auch die erwähnte Formolfixierung hatte keine Quellung zur Folge.

Der Golgiapparat war nach Formolfixierung am besten erhalten, schlechter in gepufferten Osmiumtetroxydlösungen. Bei einem pH von 6,0 fehlten die großen Golgivakuolen praktisch vollständig, was als Artefakt aufgefaßt wurde.

Für Plasmagrenzschichten sind Osmiumtetroxydlösungen geeignet. Pufferung und Molarität des Mediums sind ohne wesentlichen Einfluß. Formol-

fixierung läßt oft künstliche Myelinfiguren entstehen.

Die Mitochondrien hatten bei einem pH von 6,0 in Osmiumtetroxydlösung ein Quellungsminimum, doch war nach Formolfixierung der Quellungsgrad der Mitochondrien noch geringer. Die Proplastiden verhielten sich ähnlich wie die Mitochondrien. 1%ige Osmiumtetroxydlösung rief extreme Verquellung hervor. Schon ein geringer Rohrzuckerzusatz (0,2 M) konnte die Quellung verhindern und Schrumpfung hervorrufen. Bei Anelektrolyten mit geringem Molekulargewicht — wie Urea — verhinderte auch ein 0,5 M Zusatz die Quellung noch nicht. Das Quellungsminimum nach Anwendung einer gepufferten Lösung lag bei dem pH-Wert 6,0. Die mit Abstand besten Bilder ergab die Formolfixierung.

Strugger (1957) untersuchte die Wirkung verschiedener in der lichtmikroskopischen Technik üblicher Fixierungsgemische auf die Cytonemata. An tierischen Zellen liegen ähnliche Arbeiten schon längere Zeit vor (Policard et al. 1952, Porter und Kallman 1953, Wohlfahrt-Bottermann 1954). Doch haben alle diese Untersuchungen nur die Untauglichkeit der lichtmikroskopischen Fixierungsgemische mit Ausnahme des Formaldehyds für die Elektronenmikroskopie bewiesen. Ihre Zusammensetzung ist gegenüber dem auf Palades Arbeiten aus dem Jahr 1952 beruhenden Fixierungsmittel so abweichend, daß die durch sie hervorgerufenen Veränderungen hier nicht besprochen werden.

Abschließend läßt sich feststellen, daß bei verschiedener Fixierungsweise unzweifelhaft sehr bezeichnende Wandlungen im Bild einer Zelle auftreten können. Bei einigen Faktoren besteht Einhelligkeit über die Wirkung: Einfluß der Temperatur und Dauer der Fixierung. Über andere Faktoren, wie pH-Wert, Molarität und postmortale Veränderungen, ist die Meinung der Autoren noch unterschiedlich. Vergleicht man die Ergebnisse an Säugern mit denen an Pflanzen, dann scheint es nicht zweifelhaft, daß verschiedene Organismen sehr unterschiedlich auf dasselbe Fixierungsmedium reagieren; besonders bei weit entfernter Stellung im System muß man daran denken

Es ist notwendig, bei verschiedenen Gruppen Fixierungsstudien zu betreiben. Darüber hinaus muß das Bemühen danach gerichtet sein, nicht nur die Wirkung zu beschreiben, sondern auch den Wirkungsmechanismus aufzuklären; dann erst wird man Zellphysiologie und Ultrahistologie vereinen können.

### Zusammenfassung

Eine Besprechung der vorliegenden Literatur über die Abhängigkeit des Bildes der Zellstrukturen von der verwendeten Fixierungsmethode ergab, daß der Anteil einzelner Faktoren sehr unterschiedlich bewertet wird. So wird dem pH-Wert des Fixierungsmediums von Sjöstrand und seiner Schule nur ein geringer Einfluß zugeschrieben, von Palade und P. Sitte dagegen ein wesentlicher. Für Planaria alpina Dana konnte nun eine Änderung des ER in Abhängigkeit vom pH-Wert des Fixierungsmediums beschrieben werden. Zwei Zelltypen von Planaria alpina — Dotterstockzellen und Drüsenzellen der quergestreiften Granula — besitzen besonders reichlich "rauhes" — mit Meiosomen besetztes — endoplasmatisches Reticulum. In beiden Zelltypen quellen die Zisternen im sauren Bereich (pH 6,0—5,0) und das Grundcytoplasma bleibt weitgehend unverändert. Im alkalischen Bereich (8,0) quillt dagegen das Grundcytoplasma und die Zisternen bleiben weitgehend unverändert. Nicht nur eine qualitative Übereinstimmung ist gegeben, sondern auch eine weitgehend quantitative (siehe Tab. 1).

### Literatur

- Bachmann, L., und P. Sitte, 1959: Dickenbestimmung nach Tolansky an Ultradünnschnitten. Mikroskopie (Wien) 13, 289.
- B a u d, C. A., 1949: La forme des espaces submicroscopiques. Proc. Conf. EM Delft 1949. The Hague 1950, 111.
- Borysko, E., 1956: Recent development in methacrylate embedding I. A study of the Polymerization damage phenomenon by phase contrast microscopy. I. Biophys. Biochem. Cytol. 2 (Suppl. 4), 5.
- Dalton, A. J., 1955: A chrome-osmium fixative for electron microscopy. (Abstract. Anat. Rec.) (Am.) 121, 281.
- Fawcett, D. W., and Susumu Ito, 1958: Observations on the cytoplasmic membranes of testicular cells examined by phase contrast and electron microscopy. J. Biophys. Biochem. Cytol 4, 135.
- Hauser, J., 1956: Histologische Umbauvorgänge im Planariendarm bei der Nahrungsaufnahme. Mikroskopie (Wien) 11, 20.
- Höfler, K., 1957: Mikrosomen und Meiosomen. Protoplasma 15, 462.
- Low, F., and J. A. Freeman, 1956: Some experiments with chromium compounds as fixers for electron microscopy. J. Biophys. Biochem. Cytol. 2, 629.
- Luft, J. H., 1956: Permanganate a new fixative for electron microscopy. J. Biophys. Biochem. Cytol. 2, 799.
- Newman, S. B., E. Borysko, and M. Swerdlow, 1949: Ultra-microtomy by a new method. J. Res. Nat. Bur. Stand. 43, 183.
- Palade, G. E., 1952 a: A study of fixation of tissues for electron microscopy. J. exper. Med. (Am.) 95, 285.
- 1952 b: The fine structure of mitochondria. Anat. Rec. (Am.) 114, 427.
- 1954: The fixation of tissues for electron microscopy. Proc. III<sup>rd</sup> Int. Conf. EM. London 1954, London 1956, 129.
- 1956 a: Intracisternal granules in the exocrine cells of the pancreas. J. Biophys. Biochem. Cytol 2, 417.
- 1956 b: The endoplasmic reticulum. J. Biophys. Biochem, Cytol. 2 (Suppl. 4), 85.
- and Siekevitz, 1956: Pancreatic microsomes. An integrated morphological and biochemical study. J. Biophys. Biochem. Cytol. 2, 671.
- Peachy, L. D., 1958: Thin sections. I. A study of section thickness an physical distortion produced during microtomy. J. Biophys. Biochem. Cytol. 4, 233.
- Policard, A. M., M. Bessis et M. Bricka, 1952: La fixation des cellules isolées observées au contraste de phase et au microscope électronique. Bull. microscop. appl. 2, 29.

- Porter, K. R., and J. Blum, 1953: A new microtome for ultrathin sectioning and one of its application in electron microscopy. Anat. Rec. (Am.) 117, 685.
- A. Claude and E. F. Fullam, 1945: A study of tissues culture cells by electron microscopy. J. Exper. Med. (Am.) 81, 233.
- and F. L. Kallman, 1953: The properties and effects of osmium tetroxide as
  a tissue fixative with special reference to its use for electron microscopy.
  Exper. Cell Res. 4, 127.
- and H. P. Thompson, 1948: A particulate body associated with epithelial cells cultured from mammary carcinomas of mice of a milk-factor strain.
   J. Exper. Med. (Am.) 88, 15.
- Rhodin, J., 1954: Correlation of ultrastructural organization and function in normal and experimentally changed proximal convoluted tubule cells of the mouse kidney. Stockholm 1954.
- Satir, P., and L. D. Peachy, 1958: Thin sections. II. A simple method for reducing compression artifacts. J. Biophys, Biochem. Cytol. 4, 545.
- Sitte, H., 1955: Ein einfaches Ultramikrotom für hochauflösende elektronenmikroskopische Untersuchungen. Mikroskopie (Wien) 10, 363.
- 1956: Ein einfaches Ultramikrotom (Bau, Funktion, Anwendung). Diss. Innsbruck.
- 1957: Ein Zielpräparationsverfahren für elektronenoptische Untersuchungen. Experientia 13, 419.
- Sitte, P., 1957: Mündliche Mitteilung.
- 1958: Die Ultrastruktur von Wurzelmeristemzellen der Erbse (Pisum sativum).
   Protoplasma 49, 447.
- Sjöstrand, F. S., 1954: Mündliche Mitteilung, zit. Zetterquist 1956.
- 1956: The ultrastructure of cells as revealed by electron microscope. Intern. Rev. Cytol. 5, 455.
- and V. Hanzon, 1954: Membrane structure of cytoplasm and mitochondria in exocrine cells of mouse pancreas as revaled by high resolution microscopy. Exper. Cell Res. 7, 393.
- Watenabe, Y., 1954: Studies on the cytoplasmic filamentous structures. Proc. III<sup>rd</sup> Int. Conf. EM. London, London 1956.
- Weiss, J. M., 1953: The ergastoplasm. Its fine structure and relation to protein synthesis as studied with the electron microscope in the pancreas of Swiss albino mouse. J. Exper. Med. (Am.) 98, 607.
- Wohlfarth-Bottermann, K. E., 1954: Cytologische Studien I. Zur sublichtmikroskopischen Struktur des Cytoplasmas und zum Nachweis seiner "Partikelpopulationen". Protoplasma 45, 347.
- Zetterquist, H., 1956: The ultrastructural Organisation of the columnar absorbing cells of the mouse Jejunum. Stockholm 1956.

# Plasmolysestudien an Laubmoosen

II. Osmotische Werte

Von

## Erna Steinlesberger

Aus dem Pflanzenphysiologischen Institut der Universität Wien

Mit 1 Textabbildung

(Eingegangen am 16. Februar 1959)

### Inhalt

1.	Einleitung				٠																		456
2.	Versuche																						438
3.	Besprechung of	ler	V	e	rsi	ıd	150	erg	gel	on	iss	se											454
Zi	usammenfassu	ng																					460
L	iteratur .																						461

### 1. Einleitung

Wie im 1. Teil der Untersuchungen — "Erscheinungen des Plasmolyseverzuges bei den Laubmoosen" — gezeigt, sind weitgehende Besonderheiten zu berücksichtigen, wenn man die wichtigsten und meist gebräuchlichsten Anwendungen des Plasmolyseversuches, nämlich osmotische Wertbestimmung und Permeabilität des Protoplasten, durchführen will. Aus diesem Grunde liegen osmotische Wertbestimmungen bei Laubmoosen auch noch in geringer Anzahl vor, und aus den angeführten Gründen mußten die Studien über Plasmolyseverhalten den osmotischen Wertmessungen vorangehen. Wie wichtig die Bestimmung des osmotischen Wertes als für bestimmte Zelltypen und Zellzustände charakteristisches Merkmal ist, ist wiederholt gezeigt worden.

Was die Laubmoose betrifft, so führte erstmalig Bender (1916), für Vertreter fast aller Familien der Laubmoose und einiger Lebermoose, osmotische Wertbestimmungen durch.

Die Lebermoose wurden 1949 von Will-Richter auf breiter Grundlage bezüglich ihrer osmotischen Wertverhältnisse untersucht, wobei sie auch die zellphysiologischen Verhältnisse derselben eingehender betrachtete. Außer diesen beiden Hauptarbeiten finden sich osmotische Wertangaben von Moosen im Rahmen spezieller, an einzelnen Moosarten durchgeführten Untersuchungen bei Bächer (1923), Höfler (1930), Bonte (1934), Buhmann (1935), Kressin (1935), Mender (1938), Scheibmaier (1938), Biebl (1940, 1954), Ochi (1952 f.), Abel (1955), Haybach (1956).

Übereinstimmend geht aus diesen Arbeiten, soweit sie ökologisch ausgerichtet sind, hervor, daß Moose trockener und feuchter Standorte keine durchgreifenden Unterschiede im osmotischen Wert zeigen, wie ein solcher doch bei Blütenpflanzen deutlich in Erscheinung tritt, und der osmotische Wert bei Lebermoosen an sich, gemessen an Gewebszellen höherer Blütenpflanzen, auch bei ausgesprochen hygrophilen Arten relativ hoch ist.

Bei den folgenden Untersuchungen war es mir vor allem darum zu tun, mit exakter Methodik und unter Berücksichtigung der Erscheinungen des Plasmolyseverzuges zuverlässige osmotische Werte vergleichend zu ermitteln, einerseits für zahlreichere Arten, als sie von meinen Vorgängern behandelt wurden, andererseits im besonderen aber für Arten einer Gattung, und zwar solcher, die xero-, meso-, und hygrophytische Formen umfassen. Dadurch sollte eine Grundlage für die Vergleichbarkeit mit den Untersuchungen Abels über Trockenresistenz und gegebenenfalls auch noch einmal über Schwerplasmolysierbarkeit geschaffen werden. An ausgewählten Arten wurde orientierend auch der Gang der Umweltfaktoren festgestellt, doch müssen spezielle Untersuchungen in dieser Richtung weiteren Arbeiten vorbehalten werden.

Zur Durchführung der Bestimmungen kam nur die plasmolytische Methode (Fitting, Ursprung und Blum, Höfler und Url) in Betracht, während die kryoskopische Methode (Dixon, Atkins und Walter), die nur zu summarischen Ergebnissen führt, schon aus methodischen Gründen und als Folgerung der vorangehenden Studien ausschaltet. Aus der Kenntnis der Erscheinungen des Plasmolyseverzuges wurden die Messungen auch nicht in Traubenzucker, sondern in KCl durchgeführt, da bei Anwendung eines die Moosmembran im allgemeinen schwer oder doch nur langsam durchdringenden Osmotikums wie Traubenzucker durch den verspäteten Plasmolyseeintritt zu hohe osmotische Werte vorgetäuscht werden können. Bei den leichter diffundierenden Salzen ist dies weniger leicht der Fall. Die leicht verflüssigende Wirkung, die KCl eventuell auf die äußeren Plasmagrenzschichten haben kann, kann sich in diesem Fall ebenfalls nur günstig auswirken, da die Adhäsionswiderstände, von denen früher die Rede war, infolge der Alkalisalzwirkung wohl vermindert werden. Es war zwar allerdings notwendig, um die Fehlerquellen, die bei Verwendung von Salzen möglich sind, wie Permeation in die Vakuole oder Giftwirkung, auszuschalten, daß man bald nach erreichtem osmotischem Gleichgewicht ablas. Ich wählte als Zeitdauer für einen Versuch höchstens 20 Minuten. Kontrollablesungen nach längerer Zeit haben übrigens keine Verschiebung des osmotischen Grenzwertes infolge Rückdehnung der Protoplasten in den Salzen ergeben. Die Konzentrationsabstufung wurde im allgemeinen grob gewählt - mit 0,05 mol KCl -, gegebenenfalls wurden jedoch Zwischenstufen und noch feinere Abstufungen verwendet. Die niedrigste Konzentration war 0,02 mol, die höchste 2,0 mol KCl.

An den Anfang stelle ich, wie im 1. Teil, die Untersuchungen an verschiedenen Arten der Gattung *Plagiothecium*, deren Blätter sich, infolge eines sehr schönen Zellnetzes, für plasmolytische Untersuchungen als ganz besonders geeignet erweisen.

### 2. Versuche

## Plagiotheciaceae

Die aus dieser Familie ausgewählte Gattung *Plagiothecium* umfaßt vor allem Bewohner feuchten, schattigen Waldbodens, also hauptsächlich Mesophyten.

Plagiothecium neglectum Moenkem: Mesophytische Art feuchtschattigen Waldbodens und in Erlenbrüchen. Photos plasmolysierter Blättchen dieser und der folgenden Arten bei Steinlesberger (1959), S. 549—557.

Material	Gesammelt	Untersucht	Osmotischer Wert mol KCl							
			Sproßb Basis	Bl Spitze	Sproßsp Basis	Bl Spitze				
(1)	2. 11. 1954	23. 11. 1954	0,35	0,35	0,40	0,40				
	2, 11, 1954	2. 3. 1955	0,36	0,40	0,42	0,42				
	11. 4. 1955	21. 4. 1955	0,40	0,45	0,30	0,37				
	11. 4. 1955	28. 4. 1955	0,42	0,50	0,32	0,40				
	2. 4. 1956	6. 4. 1956	0,45	0,50	0,48	0,54				
	2. 4. 1956	7. 4. 1956	0,36	0,40	0,46	0,55				
(2)	11. 6. 1955	16. 6. 1955	0,35	0,40	0,45	0,45				
(3)	15. 10. 1955	28. 10. 1955	0,30	0,35	0,35	0,40				
	15. 10. 1955	30. 10. 1955	0,30	0,35	0,35	0,40				
	15. 10. 1955	14. 12. 1955	0,38	0,38	0,48	0,48				
	15. 10. 1955	20. 12. 1955	0,38	0,38	0,50	0,50				
	15. 10. 1955	26. 1. 1956	0,35	0,35	0,45	0,45				
	15. 10. 1955	3. 2. 1956	0,35	0,35	0,45	0,45				
	15. 10. 1955	21. 2. 1956	0,30	0,30	0,40	0,40				
	15. 10. 1955	23. 3. 1956	0,30	0,30	0,35	0,35				

#### Fundorte:

- Graben am nordwestlichen Fuße des Sonntagberges, Niederösterreich (Alpenvorland, Flyschgebiet). Auf feuchtschattigem Waldboden (Buchen-Fichten-Mischwald).
- (2) Feuchter Waldweg am Aufgang zum Hundsheimerkogel.
- (5) Rekawinkel (westlicher Wienerwald, Flyschgebiet), in Bachnähe.

Plagiothecium silvaticum Br. eur.: Mesophyt, wächst auf feuchtem, frischem lehmigem Boden im Fichten-Buchen-Mischwald.

Material	Gesammelt	Untersucht	Osmotischer Wert mol KCl
			Sproßb Bl Sproßsp Bl Basis Spitze Basis Spitze
(1)	2. 11. 1955	19. 3. 1956	0,30 0,35 0,42 0,42
	2. 11. 1955	21. 3. 1956	0,25 0,28 0,35 0,35
	23. 7. 1956	25. 7. 1956	0,35 0,35 0,55 0,35 (altes, tiefgrünes Stämmchen)

Material	Gesammelt			Gesammelt Untersucht						
							Sproßb Basis	Bl Spitze	Sproßsp Basis	Bl Spitze
							0,35	0,35	0,50	0,50
							(junge	s, frischgi	rünes Stämi	mchen)
	23.	7.	1956	10.	8.	1956	0,45	0,50	0,55	0.60
(2)	2.	7.	1955	9.	7.	1955	0,35	0,35	0,40	0,40
(3)	2.	6.	1955	7.	6.	1955	0,38	0,40	0,42	0.45

### Fundorte:

- (1) Sonntagberg.
- (2) Aggsbachklamm (westlicher Wienerwald).
- (3) Jochgraben (Klausen-Leopoldsdorf, Wienerwald).

Plagiothecium platyphyllum Moenkem: Hygro-Mesophyt; an von Wasser überrieselten Felsen und feuchten Steinen.

Material	Gesammelt	Untersucht				
			Sproßb Basis	Bl Spitze	Sproßsp Basis	B1 Spitze
(1)	11. 5. 1955	8. 6. 1956	0,25	0,25	0,30	0,30
(2)	29. 7. 1955	5. 8. 1955	0,27	0,27	0,30	0,30
	29. 7. 1955	13. 10. 1955	0,27	0,27	0,30	0,30
(3)	11. 6. 1955	14. 6. 1955	0,30	0,30	0,32	0,32

### Fundorte:

- (1) Pichl bei Mondsee (Flyschgebiet, Oberösterreich), auf feuchtem Stein.
- (2) Aufstieg Preintalerhütte—Sonntagskarsee (Schladminger Tauern), an nassem Felsen.
- (3) Aufgang zum Hundsheimerkogel.

Plagiothecium Roseanum Br. eur.: Mesophyt. Als eine Art Erstbesiedler auf lockerem, wenig verfestigtem, leicht beweglichem Substrat an Waldwegböschungen und -hängen.

Material	terial Gesammelt			Untersucht			Osmotischer Wert mol KCl						
							Sproßb Basis	Bl Spitze	Sproßsp Basis	Bl Spitze			
(1)	2.	4.	1956	9.	4.	1956	0,32	0,40	0,55	0,55			
(2)	2.	7.	1955	11.	7.	1955	0,30	0,30	0,35	0,35			
	2.	7.	1955	14.	8.	1955	0,27	0,27	0,32	0,32			
	29.	7.	1955	4.	8.	1955	0,27	0,30	0,32	0,32			
(3)	25.	11.	1955	1.	12.	1955	0,25	0,25	0,38	0,48			

### Fundorte:

- (1) Sonntagberg.
- (2) Rekawinkel.
- (3) Riederberg.

Plagiothecium undulatum Br. eur.: Einer der schönstenVertreter der Moose vom atlantischen Typus. Bildet prächtige, durch ihre weißlichgrüne Färbung auffallende Rasen an besonders feuchten und durch hohe Luftfeuchtigkeit ausgezeichneten Stellen, in den Fichten- und Fichtenmischwäldern der mittleren und oberen Bergregion. Vergesellschaftet mit Pleurozium Schreberi, Hylocomium proliferum, Rhytidiadelphus loreus und Rhytidiadelphus triqueter.

Material	Gesammelt			Untersucht			Osmotischer Wert mol KCl							
							Sproßb Basis	Bl Spitze	Sproßsp Basis	Bl Spitze				
(1)	23.	7.	1955	4.	8.	1955	0,35	0,35	0,40	0,40				
	23.	7.	1955	31.	8.	1955	0,40	0,50	0,50	0,50				
							(trocker	kultiv.)						

#### Fundort:

 Aufstieg von Hüttschlag (Großarltal, östliche Hohe Tauern, Salzburg) zur Schwarzwand.

Plagiotheeium dentieulatum Br. eur.: Charakterart säureliebender Wälder und subalpiner Zwergstrauchheiden, jedoch auch in Edellaubwäldern, auf schattigem saurem Waldboden und auf Steinen, vor allem an den Wurzeln und der Stammbasis lebender Bäume.

Material	Gesammelt	Untersucht	Osmotischer Wert mol KCl							
			Sproßb Basis	Bl Spitze	Sproßsp Basis	Bl Spitze				
(1)	29. 7. 1955	5. 8. 1955	0,25	0,25	0,30	0,30				
	29. 7. 1955	1. 9. 1955	0,30	0,30	0,30	0,30				
(2)	29. 10. 1955	6. 12. 1955	0,25	0,25	0,30	0,30				

#### Fundorte:

- (1) Aufstieg Preintalerhütte-Sonntagskarsee. In feuchten Kuhtritten.
- (2) Leithagebirge. Auf rohem Waldhumus am Fuße von Hainbuchen.

Plagiothecium succulentum Lindb.: Leitmoos der den Wurzelnischenhumus von Buchen besiedelnden Moosgesellschaft (Haybach 1956). Mesophyt.

Material	Gesammelt	Untersucht	Osmotischer Wert mol KCl							
			Sproßb Basis	Bl Spitze	Sproßsp Basis	Bl Spitze				
(1)	2. 11. 1954	4. 12. 1954	0,45	0,50	0,55	0,55				
(2)	9. 10. 1955	12. 10. 1955	0,38	0,42	0,48	0,52				
(3)	18. 3. 1956	20. 3. 1956	0,40	0,50	0,50	0,50				

### Fundorte:

- (1) Rekawinkel.
- (2) Rekawinkel.
- (3) Michaelerwald, westlich gelegener Waldweg von Neuwaldegg nach Neustift.

Plagiotheeium depressum Dixon: Besiedelt mit Vorliebe in Form hellgrüner, stark glänzender, enganliegender Rasen Steine und Baumwurzeln in den Auswaschungshöhlen von Bachuferhängen.

Material	Ge	sam	melt	Ur	ters	sucht				
							Sproßb Basis	Bl Spitze	Sproßsp Basis	Bl Spitze
(1)	23.	7.	1956	14.	6.	1956	0,45	0,50	0,55	0,60
	23.	7.	1956	10.	8.	1956	0,55 (trocken	0,60 kultiv.)	0,65	0,70

### Fundort:

(1) - Sonntagberg, Bachuferhang.

Plagiothecium laetum Br. eur. (sens. lat.): Die zarten Sprosse dieser Moosart bilden dünne Decken am Grunde von Baumwurzeln im Buchenwald.

Material	Gesammelt	Untersucht	Osmotischer Wert mol KCl							
			Sproßb Basis	Bl Spitze	Sproßsp Basis	Bl Spitze				
(1)	15. 10. 1955	24. 11. 1955	0,35	0,35	0,30	0,30				
Fundart:		mittl. Sproßbl	•		0,32	0,38				

Fundort:

(1) - Rekawinkel.

Plagiothecium silesiacum Br. eur.: Wächst in Form zarter Rasen am Grunde modernder Baumstümpfe im Fichten-Buchen-Wald,

Material	Gesammelt	Untersucht	Osmotischer Wert mol KCl							
			Sproßb Basis	Bl Spitze	Sproßsp Basis	Bl Spitze				
(1) Fundort:	23. 7. 1956	24. 11. 1956	0,45	0,50	0,52	0,60				

(1) - Sonntagberg, Fichten-Buchen-Wald.

Ein Vergleich der Versuchsergebnisse zeigt für die im großen und ganzen den Mesophyten einzureihenden *Plagiothecium*-Arten verhältnismäßig niedrige osmotische Werte. Dieselben erstrecken sich von etwa 14 bis 35 Atmosphären. Die häufigsten Meßwerte liegen um etwa 21 Atm.

Die niedrigsten osmotischen Grenzwerte zeigen P. platyphyllum und P. denticulatum, Arten, die schon ihrem Standort nach mehr zu den Hygro-Mesophyten zu stellen sind, die höchsten Atmosphärenwerte zeigen Stein und Baumwurzeln besiedelnde Arten, wie P. depressum. Die den feuchten Waldboden bewohnenden Arten haben, je nach der Artspezifität, dazwischenliegende Werte.

Zunehmende Trockenheit des Standortes läßt eine Erhöhung des osmotischen Wertes beobachten, die, mit Ausnahme der hygromesophytischen Arten, mit ganz geringen Schwankungen, bis zu 5 Atm. beträgt. — P. platyphyllum und P. denticulatum lassen auch das an den übrigen Arten zu beobachtende osmotische Wertgefälle innerhalb eines Moosblättchens vermissen und der Gradient zwischen Basis- und Spitzenblättchen eines Stämmchens ist gering.

Daß die Gradientenausbildung innerhalb eines Moosblättchens sehr von den Außenbedingungen abhängt, kommt deutlich in Feuchtkultur zum Ausdruck, wo, infolge der Gleichartigkeit der Außenbedingungen (Iljin 1928) ein solcher nicht zur Ausbildung kommt bzw. ein vorhanden gewesenes Gefälle verlorengeht (P. neglectum S. 438). Bemerkenswert ist noch, daß den Stämmchen, die kein Wachstum zeigen, ein Gradient zwischen Basis- und Spitzenblättern fehlt, Beispiel P. silvaticum (S. 438).

#### Mniaceae

In der Gattung Mnium war der Vergleich der verschiedensten Arten von Interesse schon im Hinblick auf die vielseitige physiologische Verwendbarkeit des Materials, das, im sterilen Zustand, leicht anatomisch bestimmt werden kann; im besonderen hat Abel (1956) ja diese Gattung für seine Austrocknungsversuche herangezogen.

Mnium cinclidioides (Blytt.) Hübener: Diese aus der Gattung Mnium am besten plasmolysierbare Art ist ein Bewohner sehr nasser Moore und quelliger Matten des Gebirges.

Material	Gesammelt	Untersucht		Osmotisch mol 1		
			Sproßb Basis	Bl Spitze	Sproßsp Basis	Bl Spitze
(1)	3. 7. 1955	12. 7. 1955	0,25	0,25	0,30	0,30
(2)	4. 8. 1956	10. 8. 1956	0,25	0,25	0,25	0,25

Fundorte

- (1) Torfmoor bei Tamsweg (oberes Murtal, Salzburg).
- (2) Quellige Matte am Monte Pez (Südtiroler Dolomiten).

Mnium serratum Schrad.: Leitmoos des im tiefsten Schatten von Felsklüften und Höhlen, in dessen hintersten Winkeln sich vorfindenden Mnium serratum—Fegatella conica-Vereines (Herzog-Höfler 1944).

Material	Gesammelt	Untersucht	Osmotischer Wert mol KCl			
			Sproßb Basis	Bl Spitze	Sproßsp Basis	Bl Spitze
(1)	31. 7. 1956	18, 8, 1956	0,50	0,55	0,50	0,55
Farm Janta						

Fundorte:

(1) - Feuchte Felsspalten am Sasso Beccie (Südtiroler Dolomiten).

Mnium spinosum (Voit) Schwgr.: Als Bodenwuchs um die Baumgrenze, auf dem Boden der gelockerten Nadelwälder und an feuchtschattigen Felswänden der hochmontanen Region.

Material	Gesammelt	Untersucht	Osmotischer Wert mol KCl			
			Sproßb Basis	Bl Spitze	Sproßsp Basis	Bl Spitze
(1) Fundort:	1. 8. 1956	18. 8. 1956	0,90	0,95	1,00	1,10

(1) — Augitporphyrhang am ONO-Fuß des Col de Cuc (Südtiroler Dolomiten).

Mnium undulatum Weis.: Ausgesprochenes Schattenmoos im Buchenmischwald der unteren Bergregion bzw. Fichten- und Fichtenmischwald der mittleren und oberen Bergregion, wo es bevorzugt auf frischen bis mäßig feuchten Standorten mit guter Humusersetzung gedeiht.

Material	Gesammelt	Untersucht	Osmotischer Wert mol KCl			
			Sproßb Basis	Bl Spitze	Sproßsp Basis	Bl Spitze
(1)	2. 11. 1954	1. 12. 1954	0,70	0,77	0,77	0,77
(2)	19. 8. 1956	29. 8. 1956	0,60	0,65	0,65	0,65

Fundorte:

(1) — Rekawinkel, Hauptbestand eines stark feuchten Grasplatzes in Bachnähe im Buchen-Fichten-Wald. (2) - Sonntagberg, Kalkofengraben. Rasenbildend auf lehmigem Waldboden (Buchen-Fichten-Wald).

Mnium stellare Reich.: In schattigen Wäldern und Felsklüften. Seine plagiotropen Sprosse sind vielfach in der Gesellschaft von Mnium serratum zu finden.

Material	Gesammelt	Untersucht	Osmotischer Wert mol KCl				
			Sproßb Basis	Bl Spitze	Sproßsp Basis	Bl Spitze	
(1) Fundant:	1. 6. 1955	14. 6. 1955	0,40	0,45			

(1) - Hundsheimerkogel, in feuchtem, schattigem Hohlweg.

Mnium cuspidatum Leyss.: Wächst in Form dichter, flacher Rasen am Grunde stark vermoderter Baumstümpfe (Buchen, Fichten).

Material	Gesammelt	Untersucht	Osmotischer Wert mol KCl			
			Sproßb Basis	Bl Spitze	Sproßsp Basis	Bl Spitze
(1) Fundort:	19. 8. 1956	29. 8. 1956	0,30	0,30	0,35	0,35

(1) - Sonntagberg, Kalkofengraben. Vermoderter Fichtenstumpf.

Mnium punetatum Hedw.: Seine lockerständigen sattgrünen bis schwärzlichgrünen Rasen sind auf nassem Waldboden, an Bachtälchen sowie auf morschem Holz zu finden.

Material	Gesammelt	Untersucht	Osmotischer Wert mol KCl			
			Sproßb Basis	Bl Spitze	Sproßsp Basis	Bl Spitze
(1) Fundant:	23. 7. 1956	30. 8. 1956	0,40	0,45	0,50	0,50

(1) — Sonntagberg, Kalkofengraben. Auf morschem Baumstumpf.

Entsprechend den Untersuchungen von hygro-, meso- und xerophytischen Arten innerhalb dieser einen Gattung erstrecken sich die gemessenen osmotischen Werte über einen größeren Atmosphärenbereich (ea. 14-55 Atm.). Die niedrigsten Werte zeigt als Hygrophyt M, cinclidioides, ca. 14½ Atm., die höchsten das mehr xerophytische M. spinosum, um 55 Atm. Die Werte dieser letzteren Art mögen eventuell unter anderen Standortsbedingungen niederer liegen als hier, wo relativ trockenes Material vorlag. Eine Abweichung von den hier festgestellten Meßwerten ist, den Messungen an Plagiothecium-Arten und Mn. undulatum nach zu schließen, unter geänderten Umweltbedingungen, aber auch bei den übrigen, mehr mesophytischen Mnium-Arten zu erwarten; die Schwankung beträgt jedoch nicht mehr als ca. 5 Atm.

Nach der Höhe der gemessenen Atmosphärenwerte reihen sich an M. cinclidioides, M. cuspidatum, ca. 20 Atm., M. punctatum und M. stellare, ca. 25 Atm., M. serratum, ca. 30 Atm., und M. undulatum mit ca. 35-40 Atm.

# Amblystegiaceae

Aus den aus dieser Familie ausgewählten Gattungen gelangten vor allem sumpf- und wasserbewohnende Arten zur Untersuchung.

Platyhypnidium rusciforme <sup>1</sup> Fleischer: Ein fast allgemein in klarem, schnell fließendem Wasser an Steinen verbreitetes Moos.

Material	Ge	sam	melt	Uı	nters	sucht	Osmotischer Wert mol KCl			
							Sproßb Basis	Bl Spitze	Sproßsp Basis	Bl Spitze
(1)	2.	4.	1956	4.	4.	1956	0,48	0,54	0,40	0,40
	2.	4.	1956	6.	4.	1956	0,55	0,55	0,50	0,50
(2)	25.	7.	1956	25.	7.	1956	0,55	0,55	0,50	0,42

Fundorte:

(1) - Sonntagberg, auf Stein in Bachbett.

(2) - Sonntagberg, auf Stein in Bachbett, oberhalb des Wasserspiegels.

Acrocladium cuspidatum Lindb.: Ein Moos der Bachfluren, nassen Waldböden, feuchten Wiesen und Sümpfe.

Material	Gesammelt	Untersucht		Osmotischer Wert mol KCl		
			Sproßb Basis	Bl Spitze	Sproßsp Basis	Bl Spitze
(1) E1	30. 8. 1956	1. 9. 1956	0,45	0,50	0,45	0,50

(1) — Sonntagberg, sumpfige Waldwiese.

Scorpidium scorpioldes Limpr.: Findet sich in Form dunkel- bis braungrüner Rasen, in basischen bis schwach sauren Wassergräben, Tümpeln und Mooren vom Flachland bis ins Hochgebirge.

Material	Gesammelt	Untersucht		Osmotisch mol		
			Sproßb Basis	Bl Spitze	Sproßsp Basis	Bl Spitze
(1)	9. 6. 1955	14. 6. 1955	0,45	0,45	0,40	0,40
(2)	15. 4. 1956	16. 4. 1956	0,35	0,35	0,38	0,38
	15. 4. 1956	17. 4. 1956	0,35	0,40	0,42	0,42

Fundorie

(1) - Sauerfeld bei Tamsweg, auf der Verbauung eines kleinen Bächleins.

(2) — Moosbrunn (nördliches Wiener Becken), in einem ruhig fließenden Bächlein des dortigen Flachmoores.

Calliergon Richardsonii (Mitt.) Kindb.: Charaktermoos auf Torf- und Sumpf-

Material	Gesammelt	Untersucht Osmotisc mol					
			Sproßb Basis	Bl Spitze	Sproßsp Basis	Bl Spitze	
(1)	6. 7. 1956	23. 7. 1956	0,35	0,35	0,40	0,40	
			mittl	. Bl.	0.25	0.25	

<sup>&</sup>lt;sup>1</sup> Bezüglich neuer, veränderter Terminologie sei auf die letzte Auflage von G am s (1957) verwiesen.

#### Fundort:

(1) - Karlstift (Waldviertel), Zufluß Stirrigler Teich.

Hygrohypnum ochraceum Loeske: Die lockeren, weichen Polster dieses wenig kalkliebenden Wassermooses sind an Felsen und Steinen in Bächen und an Wasserfällen zu finden.

Material	Gesammelt	Untersucht	Osmotischer Wert mol KCl			
			Sproßb Basis	Bl Spitze	Sproßsp Basis	Bl Spitze
(1) Eurodori:	30. 8. 1956	30. 8. 1956	0,45	0,45	0,45	0,50

(1) - Sonntagberg, auf Flyschblock unter einem kleinen Wasserfall.

Drepanocladus aduncus Moenkem: Ein in Niedermooren, Auen und Seen allgemein verbreitetes Moos.

Material	Gesammelt	Untersucht	Osmotischer We mol KCl			
			Sproßb Basis	Bl Spitze	Sproßsp Basis	Bl Spitze
(1)	4. 8. 1956	9. 8. 1956	0,50	0,50	0,45	0,45
			mittl	l. Bl.	0.55	0.55

### Fundort:

(1) - Quellige Matte am Abhang des Monte Pez.

Die wenig unterschiedlichen Meßwerte dieser Moosarten sind wohl aus den gleichförmigen Standortsbedingungen, denen sie unterstehen, zu erklären. Die osmotischen Grenzwerte erstrecken sich zwischen ca. 21 und 31 Atmosphären. Verglichen mit den Meßwerten von Plagiothecium- und Mnium-Arten ähnlichen Standortes (ca. 14 Atm.), liegen die hier gemessenen Werte relativ hoch. Wir dürfen daraus wohl schließen, daß bei den Laubmoosen für die Höhe der osmotischen Werte primär zunächst die Artspezifität maßgebend ist und erst sekundär die Standortsverhältnisse von Einfluß sind.

### Brachytheciaceae

In dieser Familie war vor allem die Untersuchung von Vertretern aus den Gattungen von besonderem Interesse, die von Limpricht 1890 nach dem Fehlen bzw. Vorhandensein eines "Primordialschlauches" unterschieden wurden. Vgl. Steinlesberger 1958.

Brachythecium rivulare Bruch: Besiedelt als Verbandscharakterart der Quellflurgesellschaften vorwiegend im Gebirge klare, kalte Quellbäche im Verein mit Platyhypnidium rusciforme (Herzog 1943).

Material	Gesammelt	Untersucht	Osmotischer Wert mol KCl			
			Sproßb Basis	Bl Spitze	Sproßsp Basis	Bl Spitze
(1)	2. 7. 1955	2. 7. 1955	0,50	0,50	0,55	0,55
(2)	10. 4. 1956	10. 4. 1956	0,42	0,42	0,48	0,48
	10. 4. 1956	12. 4. 1956	0,54	0,54	0,50	0,50

#### Fundorte:

- Aggsbachklause (Wienerwald); auf nur von wenig Wasser überspültem Flyschsteinblock.
- (2) Helenental (Baden bei Wien), Flußbett der Schwechat, auf unter Wasser befindlichen Steinen.

Eurhynchium striatum Schpr.: In seiner Hauptverbreitung, zusammen mit Mnium undulatum, auf die guten Waldböden beschränkt, gilt dieses (kalkholde) Moos bzw. der nach ihm benannte Moosverein als Anzeiger der besten Standorte im Fichtenwald.

Material Gesammelt		Untersucht	Osmotischer Wert mol KCl			
			Sproßb Basis	Bl Spitze	Sproßsp Basis	Bl Spitze
(1)	11. 4. 1955	18. 4. 1955	0,75	0,75	0,80	0,80
	11. 4. 1955	24. 4. 1955	0,65	0,65	0,60	0,60
	11. 4. 1955	4. 5. 1955	0,65	0,65	0,60	0,60
(2)	23. 7. 1956	24. 7. 1956	0,65	0,65	0,55	0,55
			mittl	. Bl.	0,60	0,60

#### Fundorte:

(1) u. (2) — Sonntagberg, auf feuchtem Boden im Fichtenwald.

Scleropodium purum Limpr.: Besiedelt als lockerrasiges Halbschattenmoos bessere, frische, kalkbeeinflußte Standorte mit guter Humusbildung.

Material	Gesammelt	Untersucht	Osmotischer Wert mol KCl			
			Sproßb Basis	Bl Spitze	Sproßsp Basis	Bl Spitze
(1)	23. 7. 1956	24. 7. 1956	0,80	0,80	0,78	0,78
			mitt	l. Bl.	0.70	0.70

### Fundort:

 Sonntagberg, an zur Zeit der Sammlung trockenem Waldrand eines Fichten-Buchen-Bestandes.

Die um 30 Atmosphären liegenden osmotischen Grenzwerte des submersen Brachythecium rivulare fügen sich recht gut den bisher an submersen Laubmoosarten gefundenen Meßwerten ein (s. Amblystegiaceen). Die Meßwerte liegen zwar etwas höher als bei manchen hygrophilen Laubmoosarten, sind aber durchweg niedriger als die von Will-Richter für submerse Lebermoose festgestellten plasmolytischen Grenzwerte, die, wie am Beispiel von Scapania dentata gezeigt wird, bis zu 40 Atm. betragen.

Bei Trockenheit des Standortes ist ein Anstieg der osmotischen Grenzwerte um 5—6 Atmosphären zu verzeichnen. In derselben Breite schwanken die Meßwerte des mesophytischen Eurhynchium striatum, dessen osmotischer Grenzwert normal um 37 Atm. liegt, an unter der Einwirkung kalter austrocknender Winde stehendem Frühjahrsmaterial jedoch auf 43 Atmosphären steigt. Scleropodium purum, als die mehr xerophytische Art, verzeichnet einen osmotischen Grenzwert von 46 Atmosphären. Der Unterschied im osmotischen Grenzwert zwischen Basis und Spitze beträgt bei allen Arten hier ca. 2 Atmosphären.

#### Thuidiaceae

Thuidium tamariscinum Br. eur.: Feuchtigkeits- und schattenliebendes Waldbodenmoos, Bildet lockere, flach dem Boden aufliegende, freudiggrüne Rasen im Fichten-, Fichten-Tannen-Wald.

Material	Gesammelt	Untersucht	Osmotischer Wert mol KCl			
			Sproßb Basis	Bl Spitze	Sproßsp Basis	Bl Spitze
(1)	19. 8. 1956	30. 8. 1956	0,60	0,65	0,65	0,65

(1) - Sonntagberg, in feuchter Rinne in dichtem, dunklem Fichtenbestand.

Der relativ hohe osmotische Grenzwert von 35 Atmosphären könnte hier die Folge der ziemlich trockenen Kultur des Materials sein.

# Rhytidiaceae

Nach Herzog (1926), von Rhytidium rugosum abgesehen, eine rein nördliche Familie. Vor allem bildet die Gattung Rhytidiadelphus, als ein Element des eurasisch-nordamerikanischen Waldgebietes, gerne Massenvegetationen in den mittleren und oberen Lagen des Bergwaldes. Namentlich Rhytidiadelphus loreus gehört hier zu den wichtigsten Leitformen der üppigen Moosdecke.

Rhytidiadelphus loreus Warnst.: Die lockeren Rasen dieses Schatten-Halbschatten-Mooses sind gerne in der Nähe von *Plagiothecium undulatum* in mittelalten Fichtenbeständen auf Gneisstandorten in niederschlagsreichen Gebirgslagen mit hoher Luftfeuchtigkeit zu finden. Charakterart des Fichtenwaldes.

Material	Gesammelt		Untersucht		Osmotischer Wert mol KCl					
							Sproßb Basis	Bl Spitze	Sproßsp Basis	Bl Spitze
(1)	25.	6.	1955	9.	7.	1955	0,47	0,50	0,50	0,50
	25.	6.	1955	31.	7.	1955	0,57	0,60	0,60	0,60
T7 1 .										

Fundort:

 $\mbox{(1)}$  — Aufstieg von Hüttschlag (Großarltal, östliche Tauern, Salzburg) zur Schwarzwand.

Rhytidiadelphus triqueter Warnst.: Besiedelt gern Nadel-Laub-Mischwald. Gemeines Moos.

Material	Gesammelt	Untersucht .	Osmotischer Wert mol KLC			
			Sproßb Basis	Bl Spitze	Sproßsp Basis	Bl Spitze
(1)	23. 6. 1955	11. 7. 1955	0,50	0,55	0,55	0,55
Fundort v	vie bei R loreus					

Rhytidium rugosum Kindb.: Wächst als kalkholdes Moos an sonnigen, trockenen Standorten, Erde, Gestein (Kalk und Mergel).

Material	Gesammelt	Untersucht		Osmotisch mol I		
			Sproßb Basis	Bl Spitze	Sproßsp Basis	Bl Spitze
(1)	4. 8. 1956	29. 8. 1956	0,65	0,76	0,65	0,70

Fundort:

(1) - Schlernklamm, Abstieg vom Schlern nach Völs, Südtirol, auf Kalkfels.

Von diesen Arten, deren osmotische Grenzwerte um 30 Atm. (Rhytidiadelphus-Arten) bzw. um 40 Atm. (Rhytidium rugosum) liegen, ist ein osmotisches Wertgefälle innerhalb eines Blättchens, bei den Rhytidiadelphus-Arten nur an alten Blättchen, ausgebildet. Bei Rhytidium rugosum auch an jungen.

## Hylocomiaceae

Hylocomium splendens (Hedw.) Br. eur.: Das an den Feuchtigkeitsgehalt eines Standortes keinerlei spezielle Anforderungen stellende Moos ist allgemein verbreitet in Wäldern (Fichte). Heiden und Mooren zu finden.

Material	Gesammelt	Untersucht	Osmotischer Wert mol KCl			
			Sproßb Basis	Bl Spitze	Sproßsp Basis	Bl Spitze
(1) Fundort:	23. 6. 1955	11. 7. 1955	0,45	0,50	0,50	0,50

(1) - s. Rhytidiadelphus loreus.

### Grimmiaceae

Unter den Grimmiaceen sind fast ausschließlich Gesteinsmoose zu finden. Nur wenige Rhacomitrien bewohnen auch Humuserde oder sandigen, tonigen Boden. Sie spielen besonders in den Urgebirgen unter den Felspflanzen eine hervorragende Rolle.

Rhacomitrium aciculare Brid.: Eine Leitart feuchter Schluchten der europäischen Urgebirge.

Material	Gesammelt	Untersucht	Osmotischer Wert mol KCl			
			Sproßb Basis	Bl Spitze	Sproßsp Basis	Bl Spitze
(1)	25. 6. 1955	17, 7, 1955	0,55	0,60	0,60	0,60

#### Fundort:

 Am Aufstieg von der Preintalerhütte zum Sonntagskarsee (Steiermark, Schladminger Tauern), auf Felsblöcken.

Rhacomitrium hypnoides Lindb.: Ist im Gebirge über kalkarmem Gestein allgemein verbreitet. Im Tiefland nur in niederschlagsreichem Klima.

Material	Gesammelt	Untersucht	Osmotischer Wert mol KCl			
			Sproßb Basis	Bl Spitze	Sproßsp Basis	Bl Spitze
(1) Fundorte:	25. 6. 1955	10. 8. 1955	0,50	0,55	0,55	0,55

 Aufstieg Preintalerhütte—Sonntagskarsee, auf Felsblöcken an Stellen mit dickerer Humusauflage.

Rhacomitrium canescens Brid.: Lichtmoos-Halbschattenmoos, Besiedelt in Wäldern trockene und durchlässige Oberböden. Auf heideähnlichen Standorten und grobsandigen Böschungen.

Material	Gesammelt	Untersucht	Osmotischer Wert mol KCl			
			Sproßb Basis	Bl Spitze	Sproßsp Basis	Bl Spitze
(1)	31. 7. 1955	10. 8. 1955	0,50	0,55	0,55	0,55

Fundorte:

 Wegböschung (Erde von verwittertem Augitporphyr) am Aufstieg vom Pordoi (2500 m) auf den Col de Cuc (Südtiroler Dolomiten).

Alle drei Arten, deren osmotische Grenzwerte in fast gleicher Höhe liegen (zwischen 29 und 35 Atmosphären), zeigen ein Ansteigen des osmotischen Wertes von der Basis gegen die Spitze der Moosstämmchen. Innerhalb eines Blättchens ist nur an alten Blättern ein Gradient festzustellen.

#### Dicranaceae

Eine der artenreichsten Moosfamilien. Ihr gehören in der Gattung Dicranum die häufigsten und durch ihren kräftigen Wuchs auffallenden Waldmoose an.

Dicranum scoparium Hedw.: Bildet eines der Grundelemente in vielen Assoziationen der verschiedensten Waldtypen und ist somit sehr häufig, besonders auf sauren Waldböden, oft auch auf Heideböden, Felsgestein und Baumstämmen zu finden.

Material	Gesammelt		Untersucht		Osmotischer Wert mol KCl					
					Sproßb Basis	Bl Spitze	Sproßsp Basis	Bl Spitze		
(1)	23.	7.	1955	13.	8.	1955	0,55	0,60	0,60	0,60
(2)	1.	8.	1956	13.	8.	1956	0,60	0,65	0,65	0,65

Fundorte:

- (1) Sonntagberg. Auf mäßig feuchtem Waldboden im Fichtenwald.
- (2) Hang am ONO-Fuß des Col de Cuc (Südtiroler Dolomiten).

# Dicranum Bergeri Bland.: Ein Charaktermoos der Torfmoore.

Material	Gesammelt	Untersucht	Osmotischer Wert mol KCl			
			Sproßb Basis	Bl Spitze	Sproßsp Basis	Bl Spitze
(1) Fundant:	3. 7. 1955	14. 7. 1955	0,30	0,30	0,30	0,30

(1) - Torfmoor, Tamsweg.

Die osmotischen Meßwerte der vom Waldboden stammenden Form von D. scoparium liegen etwas niederer als bei der Form des trockenen Gebirgshanges. Die Atmosphärenwerte beider Formen liegen zwischen 32 und 40. D. Bergeri als hygrophile Art mißt entsprechend nur Werte um 17½ Atm.

### Bartramiaceae

Philonotis caespitosa Wils.: Ist in Mooren und Quellen vom Flachland bis in Höhen von  $2500\,\mathrm{m}$  zu finden.

Gesammelt	Untersucht	Osmotischer Wert mol KCl			
		Sproßb Basis	Bl Spitze	Sproßsp Basis	Bl Spitze
9. 6. 1955	12. 6. 1955	0,35	0,35	0,45	0,45
			Sproßb Basis	Sproßb Bl Basis Spitze	Gesammelt Untersucht mol KCl Sproßb Bl Sproßsp Basis Spitze Basis

Fundort:

(1) - Moosbrunn, Wiesenmoor.

Philonotis fontana (1.) Brid.: Ein Bewohner kalter Quellen und quelliger Plätze vom Tiefland bis 3100 m.

Sesammelt	Untersucht	Osmotischer Wert mol KCl			
		Sproßb Basis	Bl Spitze	Sproßsp Basis	Bl Spitze
. 8. 1956	8. 8. 1956	0,54	0,60	0,60	0,60
			Sproßb Basis	Sproßb Bl Basis Spitze	Sesammelt Untersucht mol KCl Sproßb Bl Sproßsp Basis Spitze Basis

(1) - Quellige Matte am Abhang des Monte Pez.

Der um 35 Atmosphären liegende osmotische Grenzwert von *Ph. fontana* entspricht gut den bisher an subaquatischen Laubmoosen gefundenen Meßwerten. *Ph. caespitosa*, als hygrophile Form, läßt niedere Werte beobachten, die in den alten Blättchen um 21 Atm., in jungen Blättchen um 26 Atm. liegen.

### Bryaceae

Aus dieser umfangreichen Familie wurden besonders Vertreter der über 800 Arten umfassenden Gattung *Bryum* ausgewählt, da diese Moose, infolge eines für zellphysiologische Untersuchungen sehr geeigneten Zellnetzes, wiederholt zu Versuchen (u. a. Biebl 1933, Mender 1938, Abel 1956) herangezogen wurden.

Bryum capillare L.: Wächst auf Erde, Gestein und Holz vom Tiefland bis 2400 m.

Material	Gesammelt	Untersucht	Osmotischer Wert mol KCl			
			Sproßb Basis	Bl Spitze	Sproßsp Basis	Bl Spitze
(1)	5. 11. 1954	18. 11. 1954	0,25	0,30	0,42	0,48
(2)	11, 11, 1954	8. 3. 1955	0,25	0,30	0,40	0,45
(3)	2. 11. 1955	9. 12. 1955	0,25	0,30	0,35	0,40
(4)	3. 4. 1956	18. 4. 1956	0,25	0,30	0,42	0,48

Fundorte:

(1) - Neuwaldegg, auf mäßig feuchtem Boden am Grunde einer Buche.

(2), (5) und (4) — Sonntagberg, auf feuchtem, lehmigem Waldboden im Buchenmischwald.

Bryum pallens Sw.: Wächst an feuchten Felsen und Mauern, besonders an Bächen.

Material	Gesammelt	Untersucht	Osmotischer Wert mol KCl				
			Sproßb Basis	Bl Spitze	Sproßsp Basis	Bl Spitze	
(1)	31. 7. 1956	9. 8, 1956	0,30	0,35	0,25	0,30	

#### Fundort:

(1) - Vom Wasser überrieselte Felsspalte am Sasso Beccie.

### Bryum affine (Bruch) Lindb.:

Material	Gesammelt	Untersucht	Osmotischer Wert mol KCl			
			Sproßb Basis	Bl Spitze	Sproßsp Basis	Bl Spitze
(1) Fundort:	31. 7. 1956	10. 8. 1956	0,25	0,30	0,25	0,30

(1) - Feuchte Felsritzen am Sasso Beccie.

Bryum turbinatum Schwgr.: Bewohnt als feuchtigkeitsliebendes Moos Sumpfwiesen, feuchten Sand und Lehm bis 3030 m.

Material	Gesammelt	Untersucht	Osmotischer Wert mol KCl			
			Sproßb Basis	Bl Spitze	Sproßsp Basis	Bl Spitze
(1) Fundort:	4. 8. 1956	10. 8. 1956	0,30	0,35	0,30	0,35

(1) - Quellige, sumpfige Matte am Abhang des Monte Pez.

Bryum Weigelii Spreng.: Findet sich an feuchten Orten, Quellen und Sumpfwiesen, besonders im Gebirge (Urgestein).

Material	Gesammelt	Untersucht	Osmotischer Wert mol KCl			
			Sproßb Basis	Bl Spitze	Sproßsp Basis	Bl Spitze
(1) Fundants	26. 7. 1956	8. 8. 1956	0,25	0,25	0,30	0,30

 Quellgebiet in der N\u00e4he der Franz-Fischer-H\u00fctte (2000 m, Mosermandl, \u00f6stliche Hohe Tauern).

### Pohlia Rothii Broth.: Wächst auf feuchter Erde vom Tiefland bis 2000 m.

Material	Gesammelt	Untersucht	Osmotischer Wert mol KCl			
			Sproßb Basis	Bl Spitze	Sproßsp Basis	Bl Spitze
(1)	26. 6. 1955	13, 7, 1955	0,30	0,35		

Fundort:

 Aufstieg Riesachsee—Riesachfall (Steiermark). Auf Felsen mit dünner Humusunterlage.

Die osmotischen Grenzwerte der durchwegs hygro-, zum Teil mesophytischen Arten (Bryum capillare) weichen nur unerheblich voneinander ab. Die relativ niedrigen Meßwerte bewegen sich zwischen 14½ und 21 Atmosphären, nur junge Blättchen von Br. capillare geben höhere Werte. An dieser Art ist auch bemerkenswert, daß bei geänderten Außenbedingungen nur die jungen Blättchen Schwankungen der osmotischen Grenzwerte beobachten lassen.

# Funariaceae

Funaria hygrometrica L. ap. Hedw.: Siedelt mit Vorliebe auf wüsten Plätzen, besonders aber auf stickstoffüberdüngten oder sonst aschenreichen Böden und ist fast auf jeder oder in der Nähe jeder älteren Brandstelle zu finden.

Material	Gesammelt	Untersucht	Osmotischer Wert mol KCl				
			Sproßb Basis	Bl Spitze	Sproßsp Basis	Bl Spitze	
(1)	2. 11. 1955	9. 12. 1955	0,25	0,30	0,30	0,32	
Fundort:							

(1) - Sonntagberg, alte Brandstätte.

Physcomitrium sphaericum Brid.: Wächst auf feuchtem Ton und Schlammboden der Ebene.

Material	Gesammelt	Untersucht	Osmotischer Wert mol KCl			
			Sproßb Basis	Bl Spitze	Sproßsp Basis	Bl Spitze
(1)	3. 3. 1955	8. 3. 1955	0,35	0,40	0,38	0,42

Fundori:

(1) - Pichl bei Mondsee (O.-O.). Auf feuchtem, lehmigem Ackerboden.

Einzelarten aus verschiedenen Familien:

### Hookeriaceae

Hookeria lucens (L. ap. Hedw.) Sm.: Eines der schönsten und großblättrigsten Laubmoose überhaupt. Mit einem äußerst lockeren und zarten Zellnetz, dessen Zellen so groß sind, daß sie bei durchfallendem Licht schon mit schwacher Lupe unterschieden werden können. Als ausgesprochen atlantische Pflanze nur in ozeanischer Lage weiter verbreitet, besiedelt es tiefschattige, feuchte Waldschluchten, besonders an Bächen.

Material	Gesammelt	Untersucht	Osmotischer Wert mol KCl							
			Sproßb Basis	Bl Spitze	Sproßsp Basis	Bl Spitze				
(1)	2. 11. 1954	17. 11. 1954	0,25	0,28						
	11. 4. 1955	21. 4. 1955	0,30	0,32						

Fundort:

Sonntagberg. Auf feuchtem, lehmigem Waldboden in der N\u00e4he eines Waldteiches.

An dem noch unter der Nachwirkung des Winters stehenden Aprilmaterial sind etwas höhere osmotische Grenzwerte festzustellen als am Herbstmaterial. Die Meßwerte schwanken zwischen 14½ und 19 Atmosphären.

### Climaciaceae

Climacium dendroides Weber et Mohr: Ist auf torfartigen Standorten, Waldwiesen und Waldrändern mit oberflächlicher Staunässe zu finden.

Material	Gesammelt			Untersucht			Osmotischer Wert mol KCl						
							Sproßb Basis	Bl Spitze	Sproßsp Basis	Bl Spitze			
(1)	2.	7.	1955	14.	7.	1955	0,65	0,65					
(2)	4.	8.	1956	9.	8.	1956	0,55	0,68	0,55	0,60			
	4.	8.	1956	30.	8.	1956	0,50	0,50	0,50	0,50			

#### Fundort:

- (1) Aggsbachklause; sumpfige schattige Waldwiese.
- (2) Quellige Matte am Monte Pez.

### Aulacomniaceae

# Aulacomnium palustre var. imbricatum Br. eur.: Eine Form trockener Bergheiden.

Material	Gesammelt	Untersucht	Osmotischer Wert mol KCl							
			Sproßb Basis	Bl Spitze	Sproßsp Basis	Bl Spitze				
(1) E	31. 7. 1956	8. 8. 1956	0,54	0,60	0,60	0,60				

 Nordseitig gelegene Krähenbeerheide, Aufstieg vom Pordoi auf den Col de Cuc.

# Entodontaceae

Pteryginandrum filiforme Hedw.: Ist ein besonders in Bergwäldern auf Bäumen und Felsen allgemein verbreitetes Moos.

Material	Gesammelt	Untersucht	Osmotischer Wert mol KCl						
			Sproßb Basis	Bl Spitze	Sproßsp Basis	Bl Spitze			
(1)	31. 7. 1955	10. 8. 1955	0,50	0,55	0,55	0,55			

### Fundort:

 Hüttschlag (Großarltal). Auf Felsblöcken (Silikatfels) oberhalb der Schwarzwand.

Für den trockenen Standort sind die um 31 Atmosphären liegenden osmotischen Grenzwerte ziemlich niedrig.

### Lembophyllaceae

Isothecium myurum (Pollich) Brid.: Bildet ausgedehnte Rasen auf Gestein und Baumwurzeln.

Material	Gesammelt	Untersucht	Osmotischer Wert mol KCl						
			Sproßb Basis	Bl Spitze	Sproßsp Basis	Bl Spitze			
(1)	23. 7. 1956	24, 7, 1956	1,10	1,10	0,90	0,90			
			mi	ttl Rl	0.90	0.98			

#### Fundort:

 Sonntagberg; in Form dichter, trockener, braungrüner Rasen an Buchen bzw. Fichtenstämmen.

Protoplasma, Bd. LI/3

Mit den um 55 Atmosphären liegenden osmotischen Grenzwerten steht diese Moosart, zusammen mit *Mnium spinosum*, s. S. 442, in weitem Abstand von allen übrigen hier untersuchten Moosarten.

### Polytrichaceae

Catharinea undulata Weber et Mohr: Wächst häufig auf frischem, lehmigem Waldboden; auch an Wegrändern und Wiesen sehr verbreitet.

Material	Gesammelt	Untersucht		Osmotisch mol l		
			Sproßb Basis	BI Spitze	Sproßsp Basis	Bl Spitze
(1) Fundort:	23. 7. 1956	13. 8. 1956	0,40	0,55	0,42	0,47

(1) - Sonntagberg; auf feuchtem, lehmigem Waldboden in Fichtenbestand.

# 3. Besprechung der Versuchsergebnisse

Ein Überblick über dieselben zeigt, daß die osmotischen Grenzwerte bei den Laubmoosen, die zwischen 14 und 55 Atmosphären liegen, in keiner Weise höher sind als die von Will-Richter (1949) für foliose Lebermoose festgestellten Werte, sondern, wie ein Vergleich zeigt, im Durchschnitt sogar etwas niederer. Wir kommen darauf noch zu sprechen.

Unerwartet hoch liegen die osmotischen Grenzwerte bei den submersen Laubmoosen. Die Meßwerte dieser subaquatischen Formen liegen zum Teil doppelt so hoch als die osmotischen Grenzwerte der ihrem Standort nach der Mehrzahl den Mesophyten einzureihenden Arten. So zeigt das Wassermoos Brachythecium rivulare Werte um 24—29 Atmosphären, während der Mesophyt Plagiothecium denticulatum osmotische Grenzwerte zwischen 14½ und 17½ Atmosphären feststellen läßt. Etwas mehr "dem Standort entsprechender" sind die osmotischen Meßwerte von hygrophilen Arten, aber auch nur innerhalb einer Gattung. Im Vergleich zu mesophytischen Arten anderer Gattungen liegen auch deren Werte manchmal viel höher.

Der osmotische Wert läßt bei den Laubmoosen zunächst also keine Aussagen über die ökologischen Verhältnisse (Feuchtigkeit, Trockenheit) des Standortes zu. - Hierin liegt ein wesentlicher Unterschied gegenüber den höheren Pflanzen, die, in ihrem morphologischen Bau und der Höhe ihres osmotischen Wertes, vielfach sehr klar die Standortsbedingungen widerspiegeln (zusammenfassende Literatur Walter 1951). Wohl ist es so, daß die durch hohe osmotische Grenzwerte ausgezeichneten hygrophilen Arten unter den Laubmoosen auch größtenteils den solchen Arten zukommenden, locker gefügten Bau der Blattzellen vermissen lassen (Herzog 1926) und einen mehr xeromorphen Charakter zeigen, doch gibt hygromorpher Blattbau, wie einen solchen die insbesondere Moose des Schattens und feuchter Standorte umfassende Familie der Mniaceen aufweist, kein Privileg für niedere osmotische Werte. So zeigt Mnium undulatum trotz hygromorphem Blattzellbau und guter Bodenfeuchtigkeit Werte um 35 Atmosphären; und das allerdings trockene Heideböden der höheren Bergregion bewohnende Mnium spinosum Werte bis zu 55 Atmosphären.

Beziehungen zwischen osmotischem Wert und Charakter des Standortes lassen sich nur innerhalb einer Gattung feststellen, während der osmotische Wert der einzelnen Arten keine Rückschlüsse auf die ökologischen Verhältnisse des Standortes zuläßt. Die Artspezifität der osmotischen Werte spiegelt nun allerdings recht deutlich die jeweiligen Veränderungen der ökologischen Faktoren, wie sie Standortsfeuchtigkeit, Wind und Temperatur bedingen. Dabei stehen, wie bei den höheren Pflanzen (zusammenfassende Literatur Walter 1951) und den Lebermoosen (Will-Richter 1949), ebenfalls die Einwirkungen der Standortsfeuchtigkeit an erster Stelle.

Die Abhängigkeit von der Standortsfeuchtigkeit kommt deutlich in den Meßwerten einer Moosart von verschiedenen Standorten zum Ausdruck. So gibt Dicranum scoparium von feuchtem Waldboden einen osmotischen Grenzwert von 0,55—0,60 mol KCl, von einem trockenen Hang der höheren Bergregion (2500 m) 0,60—0,65 mol KCl. Brachythecium rivulare von einem unter Wasser befindlichen Stein 0,42—0,48 mol KCl, von einem Stein aus einem Bachbett mit zur Zeit der Sammlung nur geringer Wasserführung 0,50—0,55 mol KCl. Desgleichen gibt Platyhypnidium rusciforme von einem Stein unter Wasser 0,40—0,48 mol KCl, von einem über dem Wasserspiegel liegenden Stein 0,55 mol KCl. Plagiothecium neglectum von feuchtem Waldboden 0,30—0,35 mol KCl, von etwas trockenerem Standort 0,35—0,45 mol KCl. Es ließen sich dafür noch einige Beispiele anführen.

Dieser am natürlichen Standort zu beobachtende Einfluß des Bodenwassergehaltes auf die osmotischen Verhältnisse ist auch in Kultur festzustellen (vgl. die Beobachtungen Ursprung und Blum, Pringsheim, Simonis und Härtel an höheren Pflanzen, von Scheibmaier, Bächer und Will-Richter an Moosen). Plagiothecium undulatum, durch 3 Wochen hindurch trocken gehalten, verzeichnet einen Anstieg des Wertes bis um 51/2 Atmosphären, ebenso Plagiothecium silpaticum, Plagiothecium depressum, Rhytidiadelphus loreus u. a. In Feuchtkultur tritt bei den verschiedenen Moosen ein Absinken des osmotischen Wertes ein, das bei den meso-xerophytischen Arten (Beispiel Eurhynchium striatum) in der Regel stärker ist (und bis ca. 9 Atmosphären ausmacht) als bei den Sumpf- oder Quellmoosen, Beispiel Climacium dendroides, Aulacomnium palustre mit einer osmotischen Wertänderung von nur ca. 2½ Atmosphären. Daneben gibt es ihrem Standort nach mesophile Moosarten, die auf Veränderungen der Umweltfaktoren in noch geringerem Ausmaß reagieren, bzw. eine Beeinflussung derselben auf den osmotischen Wert nur in einem bestimmten Sproßabschnitt zeigen, wie Bryum capillare, das osmotische Wertänderungen nur in den Blättchen des obersten Sproßabschnittes zeigt, während die basalen Blättchen einen konstanten Wert beibehalten. Diese Erscheinung könnte eventuell auf den polsterförmigen Wuchs des Mooses zurückgeführt werden, wodurch die basalen Sproßabschnitte, verglichen mit dem stärker exponierten oberen Stammabschnitt, geringen Schwankungen der Luftfeuchtigkeit ausgesetzt sind. Freilich fanden sich solche Unterschiede bei anderen Moosen mit ähnlichen Wuchsverhältnissen nicht wieder.

Was die jahreszeitlichen Schwankungen betrifft, konnten die höchsten

osmotischen Werte stets im Frühjahr zu Ende März, anfangs April gemessen werden. Ein zweites, hinter dem ersten zurückbleibendes Maximum fällt in den Sommer. Während aber nun das Frühjahrsmaximum ganz allgemein an den Moosen feststellbar ist, sind die über dem Normalen liegenden Sommerwerte nur an durch Trockenheit des Standortes gekennzeichnetem Material zu finden. Stets niedrig liegen die Herbstwerte.

Ein Maximum im Frühjahr stellte auch Will-Richter für die Lebermoose fest, allerdings schon zu Ende Februar und anfangs März. Diese monatliche Differenz glaube ich mit Sicherheit auf die klimatisch verschieden gelegenen Sammelgebiete zurückführen zu können, da in meinem Sammelgebiet, am Sonntagberg, bis Mitte April vielfach noch empfindliche Fröste,

verbunden mit austrocknenden Winden, auftreten.

Walter (1951; weitere Literatur siehe dort) führt, auf Grund eigener Untersuchungen und der anderer Autoren, als Ursache für die allgemein an höheren Pflanzen unseres Klimagebietes im Frühjahr festzustellenden hohen osmotischen Werte Frosttrocknis und Kältewirkung an. Die gleiche Ursache glaube ich, übereinstimmend mit Och i (1952), für die Laubmoose annehmen zu dürfen, da an durch Frosttrocknis und Windwirkung sehr mitgenommenen Moosrasen ein Sproßwachstum, die andere mögliche Ursache, nicht zu bemerken war.

Mit diesen Meßergebnissen stehen die von Abel (1956) an Laubmoosen festgestellten Trockenresistenzgrenzen in gutem Einklang. Er findet, bei der jahreszeitlichen Untersuchung der Resistenzgrenzen eines Mooses desselben Standortes, ebenfalls ein Maximum im Frühjahr (März) und eine erhöhte Trockenresistenz am gleichen Material im Sommer, bei größerer Trockenheit. Desgleichen findet er für manche durch hohe osmotische Werte ausgezeichneten Hygrophyten unerwartet hohe Trockenresistenzen. Hohe osmotische Werte sind aber nicht unbedingt gleichzusetzen mit hoher Trockenresistenz, wie ein weiterer Vergleich zeigt. Recht deutlich kommt dies unter anderem am Beispiel von Plagiothecium undulatum zum Ausdruck, das unter den von Abel untersuchten Plagiotheciaceen die niedrigste Trockenresistenz aufweist, meinen Meßwerten zufolge aber keineswegs den niedrigsten osmotischen Wert. Die Beziehungen zwischen Trockenresistenz und osmotischem Wert sind also keine durchgreifenden, sie treten wieder nur beim Vergleich der Arten einer Gattung mit gewisser Deutlichkeit hervor, so daß eine Gattung mit durchschnittlich hohen osmotischen Grenzwerten in der Regel auch eine hohe Trockenresistenz aufweist, Beispiel Brachythecium, eine Gattung mit niederen osmotischen Werten niedere Trockenresistenzen, Beispiel Bruum. Die Art selbst zeigt jedoch keine Beziehungen zwischen Höhe des osmotischen Wertes und Höhe der Trockenresistenz und damit keine prinzipielle Abhängigkeit letzterer vom osmotischen Wert.

Hinsichtlich der Verteilung des osmotischen Meßwertes am Moospflänzchen sind drei Grundtypen zu erkennen (vgl. Will-Richter 1949, Mender 1938): Ein Ansteigen des osmotischen Grenzwertes von der Basis zur Spitze eines Stämmchens, Diese Form der osmotischen Wertverteilung, die von Bender (1916) allgemein für alle Moose angenommen wurde, zeigen die weitaus meisten Arten. Daneben wurde noch ein von der Basis zur Spitze absinkendes Wertgefälle beobachtet (Isothecium myurum, Eurhynchium striatum). Manche Arten, insbesonders Sumpf- und Moormoose, zeigen gleiche osmotische Werte in Stammbasis und Sproßspitzenblättchen. Diese Verteilungsmöglichkeiten sind nun keineswegs starr an bestimmte Moosarten gebunden, sondern es kann ein Typus in den anderen übergehen. So zeigt z. B. frisches Material von Brachythecium rivulare normalerweise ein im Stämmchen spitzenwärts ansteigendes osmotisches Gefälle, nach zwei Tagen Kultur ist eine Umkehr desselben festzustellen.

Auch Will-Richter beobachtet an ihren Lebermoosen neben dem an einem Moose am häufigsten auftretenden Verteilungstyp immer wieder

eine der beiden anderen Möglichkeiten.

In der Mehrzahl der untersuchten Fälle zeigen also die jüngeren Blättchen die höheren osmotischen Werte (Bächer 1923, Bonte 1934, Mender 1938), nur ganz alte Blättchen zeigen zum Teil noch höhere Werte

(Isothecium myurum, Scleropodium purum).

Neben diesem am Moospflänzchen festzustellenden osmotischen Wertgefälle ist vielfach auch im Einzelblatt, besonders in alten Blättchen, ein Ansteigen der osmotischen Werte blattspitzenwärts zu beobachten (Lamprecht 1931, Renner 1933, Bonte 1934, Kressin 1945, Mender 1938, Will-Richter 1949). Der Gradient ist hier nicht nur aus der verschiedenen Zellgröße zu erklären, indem derselbe bei anderen Moosarten mit ähnlich gebautem Zellnetz fehlt bzw. gleichförmige Standortsbedingungen das Gefälle zum Verschwinden bringen.

Die Höhe der am Moospflänzchen und im Moosblatt auftretenden osmotischen Gradienten ist, wie bei den höheren Pflanzen (Iljin 1928), insbesondere von den Standortsbedingungen abhängig. Die enge Beziehung zwischen Gradientenausbildung und Standortsfeuchtigkeit ließ sich recht deutlich an einem Plagiothecium-Rasen beobachten, wo die bodennächsten, von den anderen Stämmchen überdeckten Pflänzchen gewöhnlich kein Wertgefälle nachweisen ließen, weder im Stämmchen noch im Einzelblatt, während die obersten, den Schwankungen der Luftfeuchtigkeit am meisten ausgesetzten Sprosse ein wohlausgebildetes osmotisches Wertgefälle zeigten.

Auf der nachfolgenden Tabelle sind die hier untersuchten Moose nach der Höhe ihrer osmotischen Werte angeführt, außerdem die für die einzelnen Arten spezifischen Schwankungsweiten des plasmolytischen Grenzwertes. Jedes Zeichen + bedeutet, daß in gewissen Versuchen erst bei dieser Konzentration des Plasmolytikums Grenzplasmolyse in Erscheinung trat.

Unter den Arten mit niederen osmotischen Grenzwerten, 0,25—0,30 mol KCl (= ca. 14½—17½ Atm.), sind neben Hookeria lucens, Funaria hygrometrica, Mnium clinclidioides, Dicranum Bergeri, Plagiothecium platyphyllum und denticulatum die Mehrzahl der Brya zu finden, B. capillare, B. affine, B. Weigelii. Es folgen mit 0,30—0,40 mol KCl (ca. 18—24 Atm.) viele Plagiotheciaceen, so: P. neglectum, P. silvaticum, P. Roeseanum, P. undulatum, P. laetum. Weiters Mnium cuspidatum, Physcomitrium sphaericum und viele hygrophile Arten verschiedener Gattungen, wie Scorpidium scorpioides, Drepanocladus aduncus, Calliergon Richardsonii, Bryum pallens, B. turbinatum, Pohlia Rothii und Philonotis fontana.

# Variationsbreite der osmotischen Grenzwerte

Mol KCl	25	30	35	40	45	50	55	60	65	70	75	80	90	100	11
Hookeria lucens	+	+													
Plagiothecium dent	+	+	-												
Plagiothecium plat	+	+													
Mnium cinclidioides	+	+													
Bryum affine	+	+													
Bryum Duvalii	+	+			9										
Bryum pallens	+	+	+												
Funaria hygrometr	+	+	+												
Calliergon Richards	+	+	+	+											
Bryum capillare	+	+	+	+	+										
Plagiothecium silv	+	+	+	+	+	+	+	+							
Dicranum Bergeri		+		1				,							
Mnium cuspidatum		+	+												
Bryum trubinatum		+	+												
Pholia commutata		+	+												
Philonotis fontana		+	+		+										
Plagiothecium Roes		+	+	+	+	+	+								
Plagiothecium negl		+	+	+	+	+	+								
Drepanocladus			+		'								1		
Physcomitrium sph			+	+											
Philonotis caespit			+	+	+										
Scorpidium scorp			+	+	+										
Plagiothecium und			+	+	+	+									
Mnium stellare			,	+	+										
Mnium punctatum				+	+	+									
Catharinea undul				+	+	+	+								
Plagiothecium succ				+	+	+	+								
Eurhynchium ruscif				+	+	+	+								
Brachythecium riv				+	+	+	+								
Acrocladium cusp				'	+	+									
					+	+									
Hygrohypnum ochrac					+	+									
Drepanocladus adunc					+	+	+								
					+	+	+	+							
Plagiothecium siles					+	+	+	+	+	+					
Rhytidiadelphus lor					+	+	+	+							
Mnium serratum					1	+	+	,							
Rhytidiadelphus triqu						+	+								ĺ
Rhacomitrium hypn						+	+								
71						+	+								
Pteryginandrum filif						+	+								
Climacium dendroides						+	+	+	+						
Rhacomitrium acicul						1	+	+	,						
							+	+	+					1	
Dicranum scoparium							+	+	+	+					
Eurhynchium striat							T	+	+	T					
Mnium undulatum								+	+	+	+				
				1				T	+	+	+				
Rhytidium rugosum									T			+			
Scleropodium purum	-							1		+	+	7			
Mnium spinosum		1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	+	+	1 -

0,40—0,50 mol KCl (a. 24—30 Atm.) messen: Plagiothecium depressum, P. succulentum, P. silesiacum, Mnium stellare und M. punctatum, Hygrohypnum ochraceum, Acrocladium cuspidatum, Brachythecium rivulare, Platyhypnidium rusciforme, Catharinea undulata, Hylocomium splendens, Rhytidiadelphus loreus.

0,50—0,60 mol KCl (ca. 30—35 Atm.): Mnium serratum, Rhytidiadelphus triqueter, Rhacomitrium aciculare und hypnoides, Pteryginandrum filiforme, Dicranum scoparium, Aulacomnium palustre, Climacium dendroides, außerdem die Sproßspitzenblätter von P. depressum, P. silesiacum, P. silvaticum.

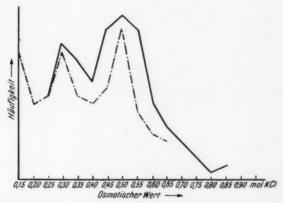


Abb. 1. Häufigkeit der osmotischen Werte. — Laubmoose, —.—. Lebermoose (für letztere aus den Traubenzuckerwerten von Will-Richter).

0,60-0,70 mol KCl (ca. 35-41 Atm.): Mnium undulatum, Eurhynchium striatum, Thuidium tamariscinum, Rhytidium rugosum.

0,70-0,80 mol KCl (ca. 41-46 Atm.): Scleropodium purum.

0,90-1,00 mol KCl (ca. 50-55 Atm.): Mnium spinosum, Isothecium muurum.

Eine Übersicht über die Häufigkeit der osmotischen Werte zeigt, daßt die häufigsten plasmolytischen Grenzwerte um 0,30—0,40 mol KCl liegen, das zweite Maximum liegt um 0,50 mol KCl.

Ganz ähnlich ist die Häufigkeitsverteilung der osmotischen Werte bei den foliosen Lebermoosen, wie aus den Messungen von Will-Richter hervorgeht. Es ergeben sich bei diesen ebenfalls zwei Maxima, von denen eines um 0,50 mol KCl liegt, das zweite, kleinere, um 0,30 mol KCl. Ein wesentlicher Unterschied besteht also nur gegenüber den thallösen Formen, wo die häufigsten osmotischen Werte um 0,15 mol KCl liegen. Die in Abb. 1 dargestellten Häufigkeitskurven der osmotischen Werte bei den Laubund Lebermoosen bringen die Verhältnisse klar zu Anschauung. Die große Ahnlichkeit im Verlauf der beiden Häufigkeitskurven ist zunächst etwas überraschend, da den Laubmoosen allgemein höhere plasmolytische

Grenzwerte zugeschrieben werden als den Lebermoosen. Ursache dafür dürfte aber wohl jeweils die Anwendung für Messungszwecke ungeeigneter Plasmolytika gewesen sein, die infolge der früher im ersten Teil aufgezeigten Ursachen zum Plasmolyseverzug führen und damit zur Vortäuschung höherer osmotischer Werte. Die orientierend gefundenen abnorm hohen Werte einzelner Laubmoosarten sind vielleicht aus chemischen Eigentümlichkeiten zu erklären.

# Zusammenfassung

Die für eine Anzahl von Laubmoosen verschiedenen ökologischen Standortes gemessenen plasmolytischen Grenzwerte liegen zwischen ca. 14 und 55 Atmosphären, mit je einer Anhäufung der Werte um 17 und 30 Atmosphären. Es liegen somit die osmotischen Grenzwerte bei den Laubmoosen nicht höher als die von Will-Richter für die Lebermoose festgestellten Werte.

Höher, als dem Standort nach erwartet, liegen die Meßwerte bei den Wassermoosen, bei ca. 24—30 Atm., so bei Brachythecium rivulare, Platy-hypnidium rusciforme. Dem Standort angemessener sind die Werte hygrophiler Arten, wie Mnium cinclidioides, Dicranum Bergeri, um 14—17 Atm. Allgemein ist es jedoch nicht möglich, aus der Höhe der osmotischen Werte Rückschlüsse auf die ökologischen Verhältnisse des Standortes zu ziehen.

Beziehungen zwischen osmotischem Wert und Standortscharakter sind nur an den Arten einer Gattung festzustellen. Die Höhe der osmotischen Werte hängt also in erster Linie von der Art ab. Die Artspezifität spiegelt dann allerdings die jeweiligen Unterschiede der ökologischen Faktoren. Trockenheit bewirkt eine Erhöhung, Feuchtigkeit eine Erniedrigung der osmotischen Werte. Die Schwankungsamplitude ist dabei von Art zu Art verschieden. Aus den vorliegenden Ergebnissen sind drei Typen zu erkennen: Formen mit weiter Schwankungsamplitude — vorwiegend meso-xerophytische Arten; Formen mit enger Schwankungsamplitude — die meisten Sumpf- und Quellmoose; Formen mit nahezu keiner Schwankung des osmotischen Wertes, z. B. Bryum capillare.

Bezüglich der jahreszeitlichen Schwankungen konnten die höchsten Meßwerte stets im Frühjahr, wahrscheinlich als Nachwirkung des Winters, festgestellt werden. Ein zweites, hinter dem ersten zurückbleibendes Maximum

fällt in den Sommer.

An den Stämmchen sehr vieler Arten ist ein von der Basis zur Spitze ansteigender osmotischer Gradient ausgebildet. Ein solcher kann aber auch entgegengesetzt gerichtet sein. In älteren Blättchen ist vielfach auch innerhalb ein und desselben Blattes ein Ansteigen des osmotischen Wertes von der Basis zur Spitze zu beobachten.

Ein Vergleich der osmotischen Werte mit den von Abel (1956) an den Moosen festgestellten Trockenresistenzgrenzen zeigt, daß die Art keine Beziehung zwischen Höhe des osmotischen Wertes und Höhe der Trockenresistenz feststellen läßt und damit keine prinzipielle Abhängigkeit letz-

terer vom osmotischem Wert.

#### Literatur

- Bächer, J., 1920: Über die Abhängigkeit des osmotischen Wertes von einigen Außenfaktoren. Beih. Bot. Cbl. I, 37, 63.
- Bender, F., 1916: Der osmotische Druck in den Zellen der Moose. Diss. Münster. Biebl, R., 1933: Wirkung der a-Strahlen auf die Zellen des Laubmooses Bryum
- capillare. S. B. Wien. Akad. Wiss., math.-nat. Kl., Abt. II a, 142, 381.
  1940: Weitere Untersuchungen über die Wirkung der α-Strahlen auf die Pflanzenzelle. Protoplasma 35, 187.
- 1938: Trockenresistenz und osmotische Empfindlichkeit der Meeresalgen verschieden tiefer Standorte. Jb. wiss. Bot. 86, 350.
- Bogen, H. J., 1953 a: Beiträge zur Physiologie der nichtosmotischen Wasseraufnahme. Planta 42, 140.
- 1955 b: Messung nichtosmotischer Wasseraufnahme an plasmolysierten Protoplasten. Planta 41, 458.
- 1956 a: Nichtosmotische Aufnahme von Wasser und gelösten Anelektrolyten. Ber. dtsch. bot. Ges. 69, 209.
- 1956 b: Stoffaustausch. Einführung, Begriffsbestimmung: Permeabilität, nichtdiosmotische Stoffaufnahme und -abgabe. Ruhlands Handbuch d. Pflanzenphysiologie, Bd. II, 116.
- Fitting, H., 1911: Die Wasserversorgung und die osmotischen Druckverhältnisse der Wüstenpflanzen. Z. Bot. 3, 209.
- 1915: Untersuchungen über die Aufnahme von Salzen in die lebende Zelle.
   Jb. wiss. Bot. 56, 1.
- Gams, H., 1957: Kleine Kryptogamenflora von Mitteleuropa. Bd. 4, 4. Aufl., Stuttgart.
- Höfler, K., 1918 a: Eine plasmolytisch-volumetrische Methode zur Bestimmung des osmotischen Wertes von Pflanzenzellen. Denkschr. Akad. Wiss., Wien, math.-nat. Kl. 95, 98.
- 1918 b: Die plasmolytisch-volumetrische Methode und ihre Anwendbarkeit zur Messung des osmotischen Wertes lebender Pflanzenzellen, Ber. dtsch. bot. Ges. 35, 706.
- 1950: Über Trockenhärtung des Protoplasmas. Ber. dtsch. bot. Ges. 65, 3.
- und W. Url, 1958: Kann man osmotische Werte plasmolytisch bestimmen? Ber. dtsch. bot. Ges. 70, 462.
- Horikawa, Y., and H. Ochi, 1953: A preliminary report on freezing experiments using several mosses (in Japanese). Hikobia 1, 131.
- Hosokowa, T., and H. Kubota, 1957: On the osmotic pressure and resistance to desiccation of epiphytic mosses from a beech forest, south-west Japan. J. Ecol. 45, 579.
- Iljin, W., 1929: Der Einfluß der Standortfeuchtigkeit auf den osmotischen Wert der Pflanzen. Planta 7, 45.
- Michaelis, P., 1954: Osmotischer Wert und Wassergehalt während des Winters in den verschiedenen Höhenlagen. Jb. wiss. Bot. 80, 537.
- Ochi, H., 1952: On the relationship between so-called "xeromorphic" characters found in mosses and their drought resistance. Bull. Soc. Plant. Ecol. 1, 182.
- 1952: The preliminary report on the osmotic value, permeability, drought and cold resistance of mosses. Bot. Mag. Tokyo 65, 10.
- Overton, E., 1899: Über die allgemeinen osmotischen Eigenschaften der Zelle, ihre vermutlichen Ursachen und ihre Bedeutung für die Physiologie. Vschr. Naturf. Ges. Zürich 44, 88.

- Pfeffer, W., 1877: Osmotische Untersuchungen. Studien zur Zellmechanik. Leipzig 1877.
- Ruhland, W., 1908: Beiträge zur Kenntnis der Permeabilität der Plasmahaut. Jb. wiss. Bot. 46, 1.
- Simonis, W., 1936: Untersuchungen über die Abhängigkeit des osmotischen Wertes vom Bodenwassergehalt bei Pflanzen verschiedener ökologischer Gruppen. Jb. wiss. Bot. 83, 191.
- Steinlesberger, E., 1959: Plasmolysestudien an Laubmoosen. I. Erscheinungen des Plasmolyseverzuges. Protoplasma 50, 544.
- Ursprung, A., 1938: Die Messung der osmotischen Zustandsgrößen pflanzlicher Zellen und Gewebe. Handb. d. biol. Arbeitsmeth. XI/4, 1109.
- und Blum, 1916: 1. Verteilung des osmotischen Wertes in der Pflanze. 2. Einfluß der Außenbedingungen auf den osmotischen Wert, 3. Über die periodischen Schwankungen des osmotischen Wertes. Ber. disch. bot. Ges. 34, 88.
- Wiesner, G., 1952: Die Bedeutung der Lichtintensität für die Bildung von Moosgesellschaften im Gebiet von Lunz. S. B. Österr. Akad. Wiss., mat.-nat. Kl., Abt. I, 161, 559.
- Will-Richter, G., 1949: Der osmotische Wert der Lebermoose. S. B. Wien. Akad. Wiss., math.-nat. Kl., Abt. I, 158, 451.
- Hier nicht erwähnte Literaturzitate bei Steinlesberger (1959).

# Referate

Handbuch der Histochemie. Herausgegeben von W. Graumann und K. Neumann. Band III: Nucleoproteide. 2. Halbband. Mit 119 Abb. XII, 324 S. Stuttgart: S. Hirzel Verlag. 1959. Geb. DM 75.—.

Von dem groß geplanten Handbuch der Histochemie, das in 7 Bänden erscheint, verdient Band III/2 ganz besonderes Interesse, denn gerade durch die Fortschritte der Nucleoproteid-Forschung hat die Cyto- und Histochemie und damit auch die Cyto- und Histologie selbst in der relativ kurzen Zeit von etwa 20 Jahren ein ganz neues, ein wesentlich vertieftes Gesicht bekommen. Diejenigen, die die neue Richtung begründet und die neuen Wege ausgebaut haben, wie vor allen Brachet, sind auch die Berufensten, zusammenfassende, einführende Berichte darüber zu geben. So stellen die Kapitel Brachets "Ribonucleinsäure und Proteinsynthese" und "Ribonucleinsäure und Morphogenese" in ihrer Knappheit und Klarheit meisterhafte Leistungen dar, die man im deutschen Sprachgebiet um so mehr begrüßen wird, da ja die früheren Werke dieses schöpferischen Forschers meist in französischer oder englischer Sprache geschrieben sind. Nicht weniger Anerkennung verdient der umfangreiche Artikel der Verdrelys, der in ausgezeichneter Disposition mit einer Fülle neuer Befunde bekanntmacht, die bisher noch keineswegs allgemein bekannt waren und die zum nicht geringen Teil von den erfolgreichen Autoren selbst erarbeitet worden sind. Dem botanischen Cytologen und Zellphysiologen wird es daraus deutlich und klar, wieweit die Zoocytologie und -histologie jetzt die entsprechenden botanischen Disziplinen überflügelt haben und wie viel auch die Phytocytologen aus diesem Handbuchteil lernen können. Ein Artikel von Burstone beschließt den Band mit einer ausführlichen Übersicht über neue und neueste "Histochemical Methods for Protein Detection". Der Verlag hat das Buch erstklassig ausgestattet und ist selbst vor der Wiedergabe gerade auf diesem Gebiete notwendiger und instruktiver F. Weber (Graz). farbiger Abbildungen nicht zurückgeschreckt.

Engström, A., und J. B. Finean: Biological Ultrastructure. Mit 162 Abb. 326 S. New York: Academic Press, 1958.

Die Autoren haben es sich zur Aufgabe gesetzt, die zahlreichen in der letzten Zeit publizierten Angaben über Molekülgröße, Gestalt und räumliche Anordnung für biologisch wichtige chemische Verbindungen zu sammeln. Seiner Disposition nach trägt das Werk fast den Charakter eines kleinen Lehrbuches, obwohl dies nicht seine eigentliche Aufgabe sein kann. Nach einem einführenden Teil werden zunächst die Methoden geschildert, die heute zur Erforschung von molekularen Strukturen dienen: Spezielle Modifikationen der Lichtmikroskopie, die Elektronenmikroskopie, sowie besonders die physikalischen Methoden, wie Spektroskopie und Röntgenstrukturanalyse. Es folgt ein Abschnitt mit dem Titel "The Principles of Molecular Structure", das den Leser in die Theorie der chemischen Bindung und der zwischenmolekularen Kräfte einzuführen versucht. Der eigentliche Wert

464 Referate

des Buches liegt aber jedenfalls bei der nunmehr beginnenden Besprechung der chemischen Hauptkomponenten der lebenden Zelle: Der Proteine, Lipide, Kohlehydrate, Nucleinsäuren und Mineralstoffe. Was hier an Angaben über molekulare Abmessungen, Atomabstände, Kristallgitterkonstanten, Assoziationsmöglichkeiten und Jildung höherer Strukturen zusammengetragen wurde, verdient zweifellos Dank und Anerkennung. Vor allem der Elektronenmikroskopiker, aber auch der lichtmikroskopisch arbeitende Cytomorphologe wird das Buch zur Deutung der von ihm gesehenen Bilder mit Vorteil benützen.

Die biologische Mikromorphologie steht heute in einem höchst interessanten Stadium: Die licht- und elektronenmikroskopische Forschung tastet sich zu immer kleineren Strukturen vor, die chemische und physikochemische Forschung klärt die Struktur immer größerer Moleküle. Die Sache gleicht einem Tunnel, der von zwei Seiten in einen Berg getrieben wird. Die Stunde, in der sich die Arbeiter von hüben und drüben die Hände reichen können, scheint nicht mehr fern. Das besprochene Buch gibt uns einen Überblick über den gegenwärtigen Stand dieser bedeutsamen Entwicklung.

H. Kinzel (Wien).

Lectures, presented at the International Symposium on Macromolecular Chemistry Prague, September 1957. Collection of Czechoslovak Chemical Communications, vol. 22 (1957), pp. 1—306. Mit zahlreichen Abb. und Tabellen. Prag 1957.

In dem vorliegenden Band sind die Vorträge und Diskussionsbemerkungen des Internationalen Symposiums für makromolekulare Chemie Prag 1957, veranstaltet von der Internationalen Vereinigung für reine und angewandte Chemie, zusammengestellt. Mit biologischen Polymeren beschäftigt sich eigentlich nur der Beitrag von P. Doty, "Biological Polymers", insbesondere mit der Struktur und der räumlichen Form sowie optischen Eigenschaften von Proteinen und Nukleinsäuren bzw. Polynukleotiden. Die übrigen Vorträge haben fast ausschließlich künstliche Polymere zum Gegenstand. Referent muß sich daher darauf beschränken, einige Vorträge von allgemeinerem Interesse zu nennen: H. Mark, "Progress in the Field of High Polymers," Bennot und Weill sowie Sadron (Einfluß von Eigenschaften der Polymeren auf die optische Anisotropie), Kargin, "Structure and Phase Condition of Polymers", Müller, "Deformationsverhalten von Hochpolymeren", Schulz (Kinetik von Radikalreaktionen). Die Beiträge russischer Autoren liegen auch in englischer Übersetzung vor. O. Härtel (Graz).

#### Bei der Schriftleitung sind folgende weitere Arbeiten eingelangt: Krisai-Knyrim, Dietlinde: Über das osmotische Verhalten von Basidiomyceten-Hyphen im Normalzustand und nach Frosteinwirkung . . . . . 26. 12. 1958 23, 1, 1959 Lindner, Hildegard: Die lichtsbhängige Vakuolisation der Chloroplasten in Nikotinlösungen (II. Elektronenmikroskopische Untersuchungen) . . . . 28. 3. 1959 Ziegler, Annemarie: Zur Anatomie und Protoplasmatik der Ölidioblasten 7. 4. 1959 Tessenow, W.: Untersuchungen an den interstitiellen Zellen von Pelmato-10. 4. 1958 Larcher, W., und H. Eggarter: Anwendung des Triphenyltetrazoliumchlorids zur Beurteilung von Frostschäden in verschiedenen Achsengeweben bei Pirus-Arten, und Jahresgang der Resistenz 21. 4. 1959 Nakazawa, S.: Morphogenesis of Fern Protonema. II. Modification of the 8, 5, 1959 Reiter, Liselotte, und F. Weber: Einschlußkörper in viruskranken Hes-22, 6, 1959 Tüchy, Elisabeth: Plasmalemma und Aluminiumsalzwirkung . . . . . . 25, 6, 1959 Höfler, K.: Über die Permeabilität der Diatomes Caloneis obtusa . . . . 27, 6, 1959 29, 6, 1959 Enöckl, F.: Uranin-Fluorochromierung von Allium-Zellen nach Vorbehand-3. 7. 1959 Moldenhauer Brooks, Matilda: Negative Oxidation-Reduction Potentials Resulting from the Use of Auxin in Plants and Tobacco Smoke on Animal 4. 7. 1959 Bancher, E., und J. Hölzl: Mikrophotometrische Untersuchungen zur Neutralrotspeicherung in den Vakuolen der Innenepidermis von Allium cepa 7. 7. 1959 Arens, K.: Ein Polaritätsmechanismus der Zelle. (Vorläufige Mitteilung) 9, 7, 1959 Kramer, G.: Plasmaeinschlüsse bei einigen Desmidiaceen-Gattungen . . . 21. 7. 1959 Freytag, K.: Die Doppelbrechung des Schleimes von Tilia ulmifolia Scop. 28. 7. 1959 28, 7, 1959 Wohlfarth-Bottermann, K. E.: Protistenstudien X. Licht- und elektronen-29. 7. 1959 mikroskopische Untersuchungen an der Amöbe Hyalodiscus simplex n. sp. Linke, W.: Wärmebewegungen beim Koazervationsprozeß . . . 19, 8, 1959 Hatano, S., und I. Takeuchi: ATP Content in Myxomycete Plasmodium and its Levels in Relation to Some External Conditions . . . . . . 21. 8. 1959 Umrath, K.: Durch Elektrolytverschiebungen im Zellinneren ausgelöste Ver-änderungen der elektrischen Spannung am Plasmalemma von Nitella 26. 8. 1959 Parker, J.: Seasonal Changes in the Physical Nature of the Bark Phloem 18. 9. 1959 Strugger, S., und L. Kriger: Untersuchungen über die Struktur der Plastiden etiolierter Pflanzen . . . . . 24, 9, 1959

# Archiv für die gesamte Virusforschung

Begründet von R. Doerr

Herausgegeben von S. Gard, Stockholm, C. Hallauer, Bern, K. F. Meyer, San Francisco, E. G. Nauck, Hamburg, A. B. Sabin, Cincinnati Schriftleitung: C. Hallauer, Bern

Euletat erachien:

Band IX, Heft 2. (Abgeschlossen im Juni 1959.) Mit 54 Textabbildungen. 160 Seiten. 1959. S 240.—, DM 40.—, nfr. 41.—, \$ 9.50

Inhaltsverzeichnis: Melén, B. Potency of Inactivated Poliovirus Vaccines. An in Vitro Method for Assay of Antibody Combining Capacity. — Melén, B., and R. Salenatedt. Potency of Inactivated Poliovirus Vaccines. The Guinea Pig Test as a Routine Method. — Mayr, A. Experimentelle Untersuchungen über das Virus der originären Schweine-pocken. — Recako, Eva. Elektronenmikroskopische Untersuchung der mit originären Schweinepocken infizierten Bauchhaut des Ferkels. — Plowright, W., M. A. Witcomb, and R. D. Ferris. Studies with a Strain of Contagious Pustular Dermatitis Virus in Tissue Culture. — Hallauer, C., und G. Kronauer. Weitere Versuche zur Züchtung und Abwandlung von klassischem Geftügelpestvirus in menschlichen Gewebeszplantaten. — Philipson, L. Studies on the Mechanism of Haemagglutination by ECHO-Viruses I. — McIntoch, E. G. S., and R. G. Sommerville. An Analysis of 24 Strains of ECHO-Virus. Type 7. — Vago, C., et J. Sisman. Mise en évidence du virus de la polyddrie d'Antherea pernyi (Lepidoptera). — Drees, O., and Eva Stubb. Über die Infektiosität der Ultrazentrifugenkomponenten in partiell gereinigten Poliomyelitisvirus-Prāparaten. — Mayer, V. Lipotropismus von Coxsackie-Virus (Typ B-1) bei ausgewachsenen weißen Mäusen. — Clarke, S. K. R., and R. Saynor. Haemagglutination-Inhibition Tests against CA Virus.

# Das Formproblem in der Biologie

Von

Univ.-Dozent Dr. med. Hans Homma Vorstand des pathologischen Institutes Salzburg

Mit 2 Textabbildungen. V, 50 Seiten. Gr.-8°. 1958. Steif geheftet S 30.-, DM 5.-, afr. 5.10, \$ 1.20

Die vorliegende Schrift hat es sich zum Ziele gesetzt, aus zahlreichen gesicherten Ergebnissen der Biologie des Tier- und Pflanzenreiches die These zu stützen, daß jedes Werden gesetzmäßiger Form des Lebendigen an eine formative Energie der Zellen gebunden ist, die in der Zygote ihr Maximum hat. Es wird weiters untersucht, was sich über die Quantität solcher formativer Energie aussagen läßt. Ein Überschuß derselben in der Zygote ermöglicht das Zustandekommen einer Vielheit von Individuen auf verschiedene Art. Diese formative Energie ist streng zu trennen von der Proliferationskraft der Zellen; beide sind allerdings gewöhnlich aneinandergekoppelt, doch lassen sich Beijspiele für das klare Überwiegen der einen oder anderen angeben. Geschwülste werden definiert als Bildungen, die bei erhaltener oder gesteigerter Proliferation und Mangel formativer Kräfte zustandekommen.

